

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Zwei Chalkon-Pigmente aus *Piper methysticum* FORST.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Günter Ranft
aus Breslau

1963

Aus dem Institut
für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Zwei Chalkon-Pigmente aus Piper methysticum FORST.



INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Günter Ranft
aus Breslau

Referent: Professor Dr. R. Hänsel
Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Juli 1963
Tag der Promotion: 18. Dez. 1963

Diese Arbeit wurde ausgeführt im Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter dessen Direktor Professor Dr. Rudolf Hänsel.

An dieser Stelle möchte ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Hänsel, für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes, und zugleich für seine stete Förderung meiner Arbeit durch Ratschläge und Hinweise herzlich danken. Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich ihm durch die Vermittlung der Tätigkeit eines wissenschaftlichen Hilfsassistenten am Institut für Pharmakognosie. Dadurch wurde mir eine wesentliche finanzielle Stütze während eines großen Teils meiner Zugehörigkeit zum Institut zuteil.

Zu Dank verpflichtet bin ich auch Fräulein Dr. L. Langhammer, Kustodin am Institut für Pharmakognosie, für ihr stets bereitwilliges Entgegenkommen zu klärenden Gesprächen.

Herrn Dipl.-Ing. J. Huber, Leiter des Analytischen Kontroll-Laboratoriums der Firma Schering AG Berlin, möchte ich für die freundliche Durchführung der Elementaranalysen vielmals danken.

Meinen Dank aussprechen möchte ich auch Herrn Prof. Dr. F. Bohlmann, Direktor des Instituts für organische Chemie der Technischen Universität Berlin, für die Erlaubnis zur Aufnahme der IR-Spektren.

In Dankbarkeit meiner Mutter gewidmet

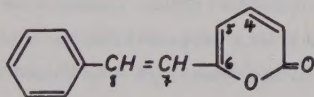
INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung und Problemstellung	5
Hauptteil	8
I. Isolierung der Flavokawin-Substanzen aus dem Kawa-Harz	9
II. Auftrennung des Flavokawin A und -B-Misch- kristallisates	12
III. Die Biogenese-Theorie der Flavonoide	14
A. Die Bildung der Phenylpropankörper	16
B. Die Bildung des Rings A der Flavonoide	20
IV. Die Konstitution von Flavokawin A	23
A. Synthese von 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimeth- oxychalkon	25
1. Phloracetophenon-4.6-dimethyläther	27
2. Darstellung des 2'-Hydroxy-4'.6'.4-tri- methoxychalkons	28
B. Nachweis der Identität von synthetischem und natürlichem Flavokawin A	29
1. UV- und IR-Absorptionsspektren	29
2. Werte der Elementaranalysen	29
3. Azetylverbindungen	32
V. Die Konstitution von Flavokawin B	34
A. Synthese von 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxy- chalkon	38
B. Nachweis der Identität von synthetischem und natürlichem Flavokawin B	38
1. UV- und IR-Absorptionsspektren	39
2. Werte der Elementaranalysen	39
3. Azetylverbindungen	42
VI. Chalkon - Flavanon - Umwandlungen	43
A. Zyklisierung von Flavokawin A	45
B. Methylierung von Naringenin	46
VII. 8.γ-Dihydrochalkone	49
Diskussion	52
Zusammenfassung	61
Literaturverzeichnis	63

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

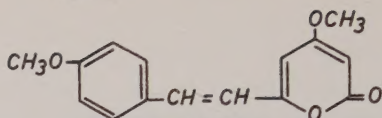
Die Wurzelstöcke der strauchartigen Piperacee *Piper methysticum* FORST., die auf den Pazifikinseln Melanesiens, Mikronesiens und Hawaiis bis in die neueste Zeit zur Bereitung eines psychotrop wirksamen (Ritual-) Trankes dienen, sind in den vergangenen hundert Jahren immer wieder auf ihr wirksames Prinzip untersucht worden. Der Trank, den sie liefern, ist in seiner Wirkung je nach Zubereitungsart verschieden und kann außerdem je nach Höhe der Dosierung von einer ruhigen, gelösten Stimmung des Trinkers bis zum tiefen, visionserfüllten Schlaf eine Reihe unterschiedlicher Zustände (1) hervorrufen, die das verbreitete Interesse an der Droge verständlich machen.

Im Verlaufe der bis heute nicht abgeschlossenen phytochemischen Untersuchungen der Droge wurde eine Zahl von monocyclischen α -Pyronderivaten aufgefunden, deren gemeinsame Grundstruktur das 6-Styryl- α -pyron ist.



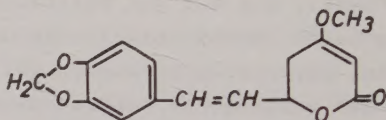
Je nach Substitution durch Methoxyl- oder Methylendioxygruppen in Stellung 4, 11 und 12 und zusätzlich durch Hydrierung der Doppelbindungen zwischen C-5 und C-6 und zwischen C-7 und C-8 erhält man Derivate dieses Grundkörpers, von denen ein Teil in der Kawa-Droge vorhanden ist. Die Entdeckung und Strukturaufklärung dieser Substanzen erstreckte sich über einen langen Zeitraum; bis heute sind bekannt (2):

I. Yangonin (3)



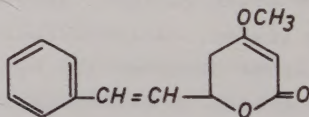
II. Desmethoxy-Yangonin (4) = 5.6-Dehydrokawain

III. Methysticin (5)



IV. Dihydromethysticin (6)

V. Kawain (7)



VI. Dihydrokawain (7) = Marindin (8)

Gemeinsam ist allen diesen Verbindungen, daß sie in Stellung 4 eine Methoxylgruppe tragen. Als pharmakologisch wirksam unter ihnen erwiesen sich die 5.6.7.8-Tetrahydro-derivate IV und VI (8)(24)(25). Jedoch kann ihre sedative Wirkung allein nicht die ataraktische und antikonvulsive Wirkung der Gesamtdrogenauszüge erklären (26).

Zwei Inhaltsstoffe anderer Art wurden 1961 von R.HÄNSEL und P.BÄHR (9) im Chloroformextrakt der Droge entdeckt. Es konnten von ihnen am Dünnschichtchromatogramm zwei Stoffe lokalisiert werden, die sich den bis dahin bekannten Kawa-Lactonen nicht zuordnen ließen; die Substanzen wurden in reiner Form isoliert und erhielten wegen ihrer gelben Farbe die Namen Flavokawin A und Flavokawin B. Die durch Verbrennungsanalysen erhaltenen Summenformeln zeigten in ihrer Zusammensetzung einen Unterschied von OCH_2 , woraus sich der Schluß ziehen

ließ, Flavokawin B sei das Desmethoxyderivat von Flavokawin A. Aus weiteren Daten (UV-Absorptionsspektren, Wasserstoffaufnahme bei der Hydrierung, Zyklisierungsreaktion zum Flavanon) konnte auf eine Chalkon-Struktur des Flavokawin A (mit einer freien Hydroxylgruppe in 2'-Stellung) geschlossen werden (10).

Es ist somit das Ziel dieser Arbeit, die Konstitution der Flavokawin-Pigmente aufzuklären, d.h. die Chalkon-Struktur durch die Synthese zu beweisen und damit gleichzeitig die Stellung der vorhandenen Methoxylgruppen festzulegen. Da jedoch die Verteilung dieser Gruppen theoretisch in allen möglichen Kombinationen verwirklicht sein kann, soll an Hand der Biogenese-Theorie der Flavonoide der Versuch gemacht werden, biogenetisch begünstigte Orte der Methoxyl-Substitution zu ermitteln. Die wenigen auf diese Weise wahrscheinlich gemachten Möglichkeiten können dann in Form synthetischer Produkte auf Identität mit den Naturstoffen verglichen werden.

Ferner soll der biogenetische Zusammenhang von Chalkonen und Flavonoiden mit den 6-Styryl- α -pyranderivaten erörtert werden um zu zeigen, daß die Flavonoid-Biogenesetheorie auch auf die Bildung der Kawa-Lactone angewendet werden kann. Das gemeinsame Vorkommen von Chalkonen und 6-Styryl- α -pyronen könnte dann als wesentliche Stütze für diese Auffassung angesehen werden.

HAUPTTEIL

I. ISOLIERUNG DER FLAVOKAWIN-SUBSTANZEN AUS DEM KAWA-HARZ

Um für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen ausreichende Mengen der Vergleichssubstanzen vorrätig zu haben, wurde das von R.HÄNSEL und P.BÄHR (9) beschriebene Isolierungsverfahren angewendet; dabei wurden einige Modifikationen vorgenommen, die zum Teil ihre Ursache in der unterschiedlichen Aktivität der aus dem Handel bezogenen Adsorptionsmittel haben.

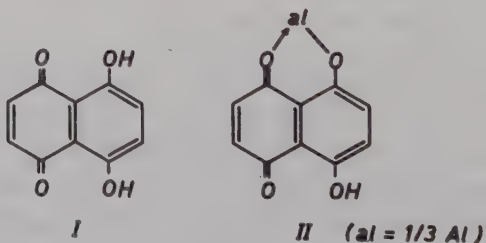
Das trockene Kawa-Rhizom liefert bei Extraktion mit Chloroform oder Methylenchlorid einen braunen, harzig-schmierig-klebrigen Extrakt, wovon etwa 60 g einem Kilogramm der trockenen Droge entsprechen. Dieser Extrakt ist zum großen Teil löslich in Methanol; auch die gesuchten Flavokawin-Substanzen, die ja in relativ geringer Konzentration enthalten sind, gehen dabei in Lösung. Man kann nun nach dem Prinzip der wiederholten Ausschüttelung im Perforator mit Petroläther einen angereicherten Zweitextrakt herstellen, der nur noch das halbe Gewicht der eingesetzten Extraktmenge ausmacht.

Perforiert man also 60 g Erstextrakt so lange, bis (nach etwa 8 Stunden) ca. 30 g davon in den Destillationskolben übergegangen sind, so erhält man einen gelb-braunen Zweitextrakt, aus dem sich die Flavokawin-Pigmente mit Hilfe von aktivem Aluminiumoxyd isolieren lassen. Zu diesem Zweck gibt man den in Benzol gelösten angereicherten Extrakt auf eine Säule (45 x 5,5 cm) aus Aluminiumoxyd-WOELM -aktiv-neutral (200 g, Füllhöhe 10,5 cm) und wäscht nach dem Einsickern der braun-roten Lösung mit Benzol nach. Dabei lassen sich die harzig-schmierigen Bestandteile und ein großer Anteil der Begleitsubstanzen

wieder auswaschen. Die Flavokawine dagegen werden ebenso wie die rotbraunen Farbpigmente fest adsorbiert und können mit organischen Lösungsmitteln nicht entfernt werden.

Die Adsorption von Verbindungen mit freien Hydroxylgruppen aus nichtwäßrigen Lösungsmitteln an polar gebaute, hydrophile Adsorbentien erklärt H. BROCKMANN (11) mit der Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den H-Atomen der Hydroxylgruppen und einsamen Elektronenpaaren des Adsorbens (z.B. am Sauerstoff). Dabei hängt nach BROCKMANN und VOLPERS (12) die Festigkeit dieser Bindungen einerseits von der Art und Zahl der funktionellen Gruppen ab und andererseits von der Konstitution des Grundgerüsts der adsorbierten Verbindung. Eine Verbindung wird im allgemeinen umso fester adsorbiert, je mehr konjugierte Doppelbindungen im Molekül vorhanden sind.

Jedoch scheint die feste Haftung der Kawa-Chalkone am Aluminiumoxyd nicht nur auf einer solchen Adsorptionserscheinung zu beruhen, sondern es muß wohl auch ein Vorgang in Betracht gezogen werden, der einer Farblack-Bildung gleichkommt. F. KLAGES (13) erklärt die Bildung solcher Farblacke damit, daß sich eine Oxo- und eine Hydroxylgruppe in einer zum Ringschluß günstigen Stellung befinden (I) - wie es offenbar bei den Kawa-Chalkonen der Fall ist - und daß eine solche Verbindung mit mehrwertigen Metallionen sehr stabile chelatartige Komplexe (II) bilden kann.



Auf die Bedeutung solcher Gruppierungen für die Farbstoffbildung weisen auch F. CRAMER und O. BAYER (14) hin und erwähnen neben Hydroxychinonen auch Hydroxyketone (o-Hydroxyacetophenon).

Da eine solche β -Hydroxyketon-Gruppierung bei den Flavokawin-Substanzen vorliegt, konnte zu deren Ablösung vom Aluminiumoxyd nur der sonst umgekehrte Weg beschritten werden, nämlich statt der Elution die Zerstörung des Adsorptionsmittels (15) (16). Es hatte sich im Laufe der Untersuchungen von P. BÄHR gezeigt, daß die Kawa-Chalkone aus alkalischer Lösung durch Ansäuern unverändert wieder ausgefällt werden können. Somit bot sich der Weg der "alkalischen Elution" an: die Struktur des Aluminiumoxyds wird zerstört und die Chalkone gehen als 2'-Phenolate in Lösung.

Beim Chromatographieren des Zweitextrakts an einer Aluminiumoxyd-Säule hatte sich folgendes Bild entwickelt: Über einer rein gelben Schicht lagerten nach oben abschließend rot-braun bis rot-orange gefärbte Zonen; diese Anteile wurden herausgeschnitten und bei 80° im Trockenschrank vom anhaftenden Benzol befreit. Das so erhaltene gelbe, körnige Pulver konnte nun mit Wasser in eine Säule (45 x 5,5 cm) eingeschlämmt und anschließend mit 1800 ml n-Natronlauge ausgezogen werden. Die bei diesem Verfahren erhaltene gelb-braune Lösung schied nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure eine schmutzig-gelbe Trübung ab, zu deren Ausschüttelung ca. 500 ml Essigester verwandt wurden. Es wurde säurefrei gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, abdestilliert und der braunrote Rückstand in möglichst wenig warmem Methanol aufgenommen. Im Eisschrank fielen dann Flavokawin A und -B in Form eines gelben, nadelförmigen Kristallisates aus.

II. AUFTRENNUNG DES FLAVOKAWIN A UND -B MISCHKRISTALLISATES

Die beiden gesuchten Substanzen, die schon bei ihrer Entdeckung am Dünnschichtchromatogramm (9) als zwei verschiedene Verbindungen erkannt wurden, kristallisieren gemeinsam und sind auf diese Weise nicht oder nur unter großen Substanzverlusten voneinander zu trennen. Eine gute Möglichkeit der Auftrennung bietet jedoch ihre Chromatographie an Kieselgel.

Auch dieses Verfahren wurde bereits von R.HÄNSEL und P.BÄHR (9) beschrieben, jedoch wurde auch hier auf Grund der schwankenden Aktivität der Kieselgel-Lieferungen eine Änderung der Versuchsbedingungen nötig.

Wie sich bei Probeversuchen herausstellte, besaß das frisch gelieferte Kieselgel eine höhere Aktivität als das früher gelieferte, so daß mit dem Laufmittelgemisch Cyclohexan-Chloroform (1:1, v/v) (9) eine Auftrennung des Chalkon-Gemisches in zwei durch eine "leere" Zone voneinander getrennte Ringe nicht gelang. Der Trenneffekt konnte jedoch reproduziert werden durch die hydrophile Veränderung des Laufmittels in: Cyclohexan - Chloroform 25:75 (v/v).

130 g Kieselgel G (Merck) wurden in Cyclohexan angeschlämmt und in eine Säule (55 x 4,5 cm) eingefüllt. Die Füllhöhe nach dem Absetzen betrug 22 cm. Um die zu trennende Substanz in möglichst gleichmäßiger Schicht auf diese Säule aufzubringen, wurden 400 mg des Mischkristallisates in 3 ml Chloroform gelöst, diese Lösung mit 5 g trockenem Kieselgel G gut verrieben, das Chloroform im Trockenschrank bei 80° entfernt und nun das so erhaltene gelbe Pulver ebenfalls in Cyclohexan suspendiert. Diese Anschlammung ließ sich leicht zu dem noch über der Kieselgelsäule stehenden Cyclohexan geben, worauf sich das gelb imprägnierte Kieselgel in völlig gleichmäßiger Schicht

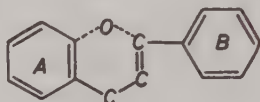
auf dieser Säule absetzte (17). Durch Öffnung des Säulenhahnes wurde das überstehende Cyclohexan unten abgelassen und nach völligem Einsickern konnte nun mit dem Laufmittel Cyclohexan-Chloroform 25:75 (v/v) eluiert werden. Die beiden Chalkone wanderten in sich langsam vergrößerndem Abstand, so daß sie auf dem Fraktomaten isoliert aufgefangen werden konnten. Die Dauer der Elution betrug 46 Stunden bei einer Tropfgeschwindigkeit von etwa 30 Tropfen pro Minute. Dabei wurden insgesamt benötigt 1650 ml Laufmittel, die sich aufgliederten in 1400 ml leeren Vorlauf, 100 ml Flavokawin B - Lösung, 40 ml Mischfraktion und 110 ml Flavokawin A - Lösung.

Die von BROCKMANN und VOLPERS (12) wie auch von G.HESSE (18) geäußerte Auffassung, daß eine Verbindung an ein Adsorptionsmittel umso fester adsorbiert wird, je mehr konjugierte Doppelbindungen im Grundgerüst des Moleküls vorhanden sind, daß dabei solche Doppelbindungen die Adsorptionsaffinität erhöhen, die in Konjugation zur Carbonylgruppe stehen ("Benzalacetophenon wird an Aluminiumoxyd stärker adsorbiert als Acetophenon (12)"), und daß schließlich diese Adsorptionsaffinität wesentlich beeinflußt wird von der Art und Zahl (!) der funktionellen Gruppen, findet ihre Bestätigung im Verhalten der beiden Kawa-Chalkone an der Kieselgelsäule. Da sich Substanz A durch eine zusätzliche Methoxylgruppe von Substanz B unterscheidet, verlangt die Theorie, daß Flavokawin B weniger fest adsorbiert und damit auch schneller eluiert wird als Flavokawin A. Wie der Versuch gezeigt hat, entspricht das Verhalten der Substanzen dieser Forderung.

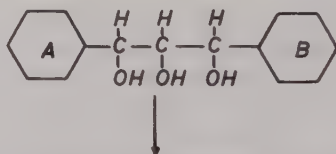
Mit den geschilderten Verfahren wurden 780 g Methylenchlorid-Extrakt aufgearbeitet und die Ausbeute an Reinsubstanzen betrug für Flavokawin A 2,3 g (Schmp. 114-115°) und für Flavokawin B 0,575 g (Schmp. 91°).

III. DIE BIOGENESE-THEORIE DER FLAVONOIDE

Als Flavonoide bezeichnet man eine Gruppe von Verbindungen, deren Grundgerüst aus 15 Kohlenstoffatomen besteht, die in Form von zwei miteinander durch eine C_3 -Brücke verbundenen aromatischen Ringen angeordnet sind.



Je nach Oxydationszustand der aliphatischen Kette leiten sich von diesem Grundkörper verschiedene Typen ab, die von T.A.GEISSMAN und E.HINREINER (19) in folgender Reihe angeordnet werden:

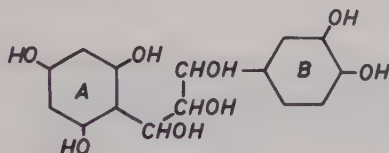


1. $A-CH_2-CHOH-CHOH-B$	Catechine
2. $A-CO-CH_2-CH_2-B$	Dihydrochalkone
3. $A-CO-CH_2-CHOH-B$	Flavanone und Chalkone
4. $A-CH_2-CO-CO-B$	Anthocyane
5. $A-CO-CH_2-CO-B$	Flavone
6. $A-CO-CO-CH_2-B$	Benzalcumaranone
7. $A-CO-CHOH-CHOH-B$	Flavanonole
8. $A-CO-CO-CHOH-B$	Flavonole

Von diesen verschiedenen Typen sind je nach Art und Zahl unterschiedlich substituierte natürliche Derivate bekannt, deren Zahl etwa 150 (20) beträgt.

Trotz aller Vielfalt innerhalb der Klasse der Flavonoide ist jedoch auf den ersten Blick ihre Verwandtschaft untereinander zu erkennen. Als durchgehendes auffallendes Merkmal muß dabei die Stellung der Hydroxylgruppen erwähnt werden. Sie ist für jeden der beiden Ringe in besonderer Weise charakteristisch und es ist demnach nicht verwunderlich, daß bei so auffälligen und in der Natur so weit verbreiteten sekundären Pflanzenstoffen wie den Flavonoiden auch die Frage nach ihrer Abkunft aus dem pflanzlichen Stoffwechsel gestellt wurde.

Als einer der ersten hat sich wohl R.ROBINSON (21) mit dieser Frage beschäftigt. Er untersuchte die Bildung von Anthocyanen in Pflanzen und war der Auffassung, daß sie, wie überhaupt das $C_6-C_3-C_6$ -System, aus einfachen Kohlenhydraten hervorgingen. Auf dem Wege der Aldolkondensation sollte eine C_3 -Einheit (Triose) an eine $C_6(B)$ -Einheit (Hexose) gefügt werden; an diese Verbindung würde sich die $C_6(A)$ -Einheit (Hexose) anlagern. Als Grundkörper der $C_6-C_3-C_6$ -Verbindungen formulierte ROBINSON die folgende Struktur:



Eine der ersten großen Zusammenfassungen des bis dahin bekannten Wissens über die Bildung und Ausgestaltung der Flavonoide im pflanzlichen Organismus wurde 1952 von T.A. GEISSMAN und E.HINREINER (19) gegeben. 1953 erschien eine Arbeit von A.J.BIRCH und F.W.DONOVAN (22), in der unter Hinweis auf die Struktur verschiedener Naturstoffe mit Orcin- oder Phloroglucin-Kernen im Molekül die Hypothese aufgestellt wird, diese Kerne seien durch Kopf-Schwanz-Verknüpfung von Azetat-Einheiten mit nachfolgendem Ringschluß entstanden. Aus Versuchen mit markierter Essigsäure

re (23) wisse man zwar, daß auch Fettsäuren und Steroide sich aus Azetat-Einheiten aufbauen, aber der fast vollständige Verlust des Sauerstoffs mache es unmöglich, diese Einheiten lediglich durch Betrachtung der Formeln aufzufinden. Deshalb seien Moleküle mit sauerstofftragenden aromatischen Ringen besser geeignet für die Untersuchung des Azetat-Einbaus, denn Sauerstoff wird aus solchen Ringen nicht so leicht entfernt wie aus aliphatischen oder alicyclischen Systemen.

Die Veröffentlichungen dieser Arbeiten standen am Beginn einer Reihe von Mitteilungen über experimentelle Untersuchungen dieser Zusammenhänge. Dabei war die Verwendung von radioaktiv markierten Substanzen die wichtigste Methode zur Klärung dieser Fragen, und es hat sich gezeigt, daß die Azetat-Hypothese für die Bildung phloroglucin- oder resorcinsubstituierter Kerne im wesentlichen zutrifft. Mit diesen Ergebnissen wird jedoch erst der eine Weg zur Biosynthese der Flavonoide aufgeklärt und es muß außerdem erläutert werden, auf welche Weise der B-Ring mit der anhängenden C_3 -Kette entsteht.

A. Der Weg der aromatischen Biosynthese

(Bildung der Phenylpropankörper)

Der Ring B und die daran angeknüpfte C_3 -Kette der Flavonoide können als Phenylpropan-Einheit angesehen werden. Es hat nicht an Hinweisen und Versuchen gefehlt, die vielfältigen natürlichen Phenylpropankörper damit in Zusammenhang zu bringen und zu zeigen, daß z.B. Zimtsäurederivate oder Phenylalanin in Flavonoide eingebaut werden, und andererseits, daß Zimtsäurederivate aus radioaktiv markiertem Phenylalanin hervorgehen können (27). Damit kann auf einen gemeinsamen Ursprung dieser aromatischen Verbindungen geschlossen werden; und wie die Ergebnisse der

Arbeiten von DAVIS gezeigt haben, liegt dieser Ursprung im Stoffwechsel der Kohlenhydrate. Somit hat sich die Ansicht von ROBINSON (21) in ihrem Grundgedanken bestätigt, daß einfache Kohlenhydrate die Quelle der flavonoiden Verbindungen sind.

DAVIS und Mitarbeiter haben in einer langen Reihe von Veröffentlichungen die wesentlichen Stufen dieses biosynthetischen Vorgangs beschrieben. Sie benutzten zur Aufklärung der einzelnen Schritte eine Reihe von Mutanten der Mikroorganismen *Escherichia coli* und *Aerobacter aerogenes*, bei denen das diffizile Stoffwechselgleichgewicht gestört war. Diese Störung hatte zur Folge eine Anhäufung von Substanzen, die als Ausgangsprodukte für blockierte Synthesen angesehen werden mußten. Die Blockierung solcher Stoffwechselschritte wird bereits durch die Abwesenheit eines einzigen Enzyms hervorgerufen, und der besondere Wert der Methode liegt darin, daß die gebildeten Substrate im Nährmedium der Kulturen angehäuft werden (34) (61). Füttert man solche Kulturen also mit markierten Vorläufern der erwarteten Intermediärprodukte, so kann man aus der Verteilung der Radioaktivität Schlüsse auf den Biosyntheseweg ziehen (28-31)(47)(32)(33).

Auf diese Weise gelang es DAVIS ein Schema aufzustellen, das den Weg der Bildung aromatischer Aminosäuren aufzeigt (34)(35), und das damit gleichzeitig auch für die Bildung der Phenylpropankörper Gültigkeit hat. In etwas veränderter Form wurde dieses Schema Vorbild für die folgende Übersicht, die von T.SWAIN und E.C.BATE-SMITH in einer zusammenfassenden Betrachtung der flavonoiden Verbindungen gegeben wird (36).

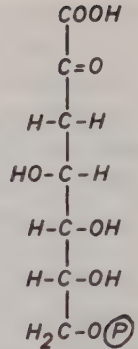
Die Biosynthese der C_6-C_3 -Körper verläuft demnach über den Weg: Glucose $\longrightarrow$ 2-Keto-3-desoxy-7-phospho-glucoheptonsäure $\longrightarrow$ 5-Dehydrochinasäure $\longrightarrow$ Shikimisäure $\longrightarrow$ Prephensäure $\longrightarrow$ Phenylbrenztraubensäure.

Glucose $\longrightarrow$ Sedoheptulose-1,7-diphosphat

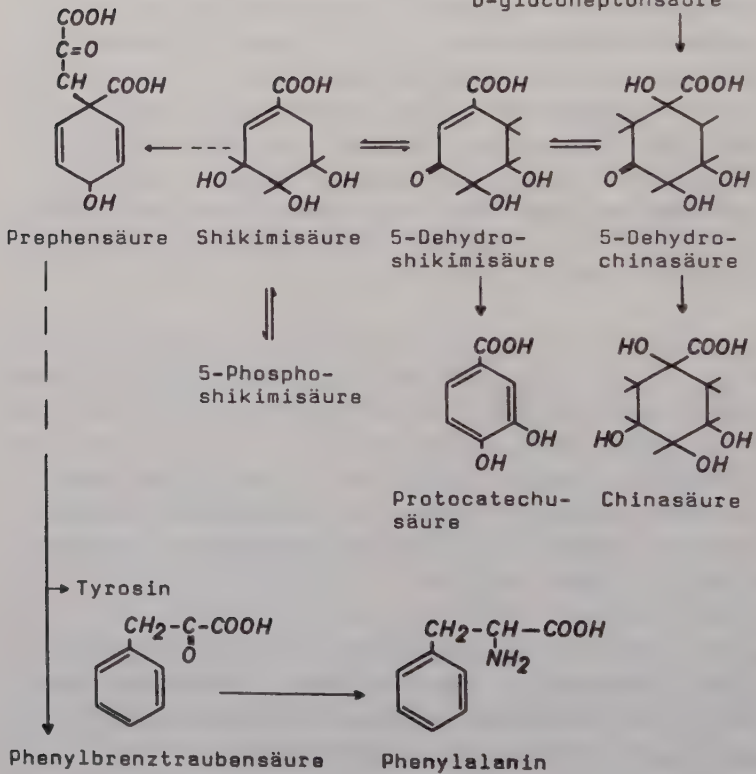
--- $\rightarrow$ Phosphoenolbrenztraubensäure

+

--- $\rightarrow$ Erythrose-4-phosphat



2-Keto-3-desoxy-7-phospho-D-glucoseheptonsäure



Aus der weiten Verbreitung der Shikimisäure in höheren Pflanzen (42) und aus den Befunden von GRISEBACH (40), EBERHARD und SCHUBERT (38), WATKIN, UNDERHILL und NEISH (39), REZNIK und URBAN (41), GEISSMAN und SWAIN (27), BROWN und NEISH (42) und vieler anderer geht hervor, daß dieser Weg der Biogenese von C_6-C_3 -Verbindungen nicht nur bei Mikroorganismen zu finden ist, sondern auch für die höheren Pflanzen angenommen werden muß (42). Alle diese Arbeiten befassen sich mit dem Einbau von radioaktiv markierter Shikimisäure, Phenylpropankörpern oder aromatischen Aminosäuren in Flavonoide bzw. in Lignin; und es bestätigt sich damit die ursprüngliche Annahme, nach der zwischen Zimtsäurederivaten, Lignin und Flavonoiden eine enge biogenetische Verwandtschaft besteht.

Betrachtet man das Hydroxylierungsmuster der C_6-C_3 -Verbindungen, so findet man, daß der aromatische Ring entweder keine oder aber eine bis drei Hydroxylgruppen trägt. Das erste Hydroxyl steht stets in para-Stellung zum Anheftungspunkt der C_3 -Gruppe an den Ring, während die folgenden Gruppen in ortho- oder in vicinal-Stellung zu der ersten angeordnet sind. GEISSMAN und HINREINER (19) erwähnen, daß Hydroxylierung in 2-Stellung vorkommt, jedoch nicht in 2- und 6-Stellung gleichzeitig. Inzwischen wurden jedoch auch Vertreter einer 2.4.6-Hydroxylierung beschrieben (60).

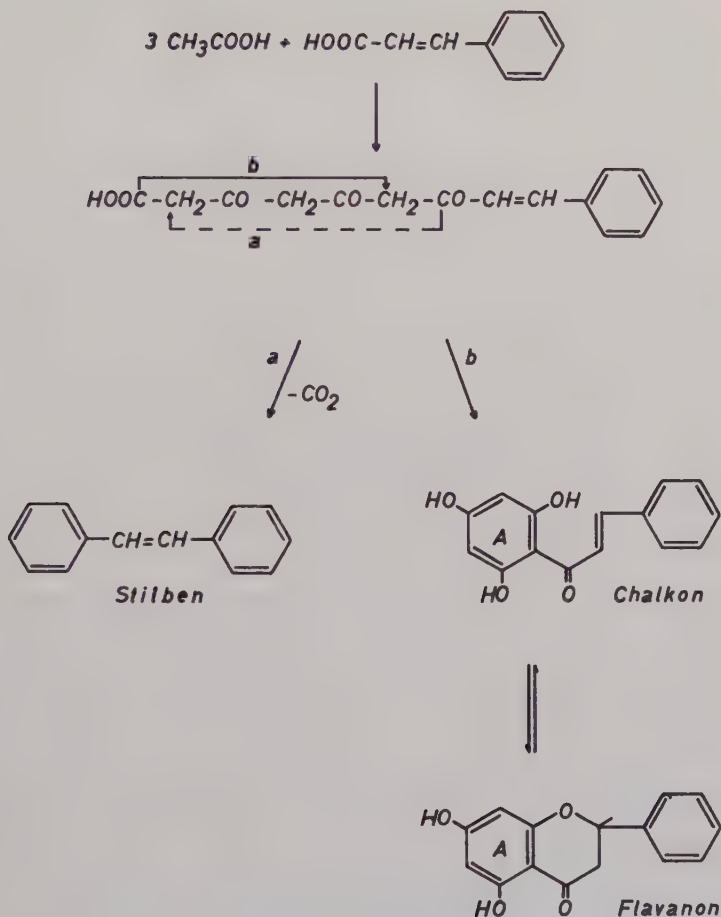
Die Hydroxylgruppen können methyliert oder glykosidiert sein. Bei ortho- oder vicinal-Gruppierung bleibt dann jedoch das 4-Hydroxyl gewöhnlich frei. Wann allerdings die Einführung der Hydroxylgruppen in das Molekül der Flavonoide stattfindet, ob vor oder nach der Ausbildung des $C_6-C_3-C_6$ -Skeletts, ist nicht endgültig geklärt (43). Nach Auffassung von SWAIN und BATE-SMITH (36) läuft dieser Vorgang vorher ab.

B. Die Bildung des Rings A der Flavonoide

Die Auffassung von ROBINSON (21), daß Flavonoide aus Kohlenhydraten entstehen, konnte in ihrem Grundgedanken durch die Ergebnisse der Arbeiten von DAVIS für die C_6-C_3 -Körper bestätigt werden. Es zeigte sich jedoch, daß hinsichtlich der Entstehung des Rings A der Flavonoide diese Hypothese zu wörtlich ausgelegt worden war. Danach sollten meso-Inosit und Phloroglucin Vorstufen dieses Ringes sein (44), jedoch waren Versuche, dieses Ergebnis zu bestätigen, nicht erfolgreich (45)(46).

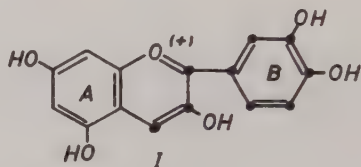
Dagegen erwies sich die von BIRCH und DONOVAN (22) geäußerte Hypothese der Kopf-Schwanz-Verknüpfung von Azetat-Einheiten, mit nachfolgendem Ringschluß, als richtig. Nimmt man an, daß an einen Zimtsäurerest (höchstwahrscheinlich als CoA-Derivat) drei Azetyl-CoA-Einheiten addiert werden, so könnte nach SWAIN und BATE-SMITH (36) unter Bildung einer Poly- β -ketosäure (52)(19) als Zwischenstufe je nach Art des Ringschlusses ein Stilben oder ein Chalkon bzw. ein Flavanon entstehen (siehe auch BIRCH (48)).

Den experimentellen Beweis für diese Hypothese lieferte H.GRISEBACH (37)(49) durch den Abbau von Cyanidin, dessen Ring A aus radioaktivem Azetat gebildet worden war. Ein analoger Vorgang zu diesem Azetat-Einbau findet sich in der Biosynthese der Fettsäuren, und es ist möglich, daß die Synthese aromatischer sauerstoffhaltiger Ringe (z.B. des A-Rings der Flavonoide) in derselben Weise beginnt wie die der geradkettigen Fettsäuren (36). Dann fungiert jedoch nicht Azetyl-CoA als Baustein, sondern infolge eines primären Carboxylierungsschrittes Malonyl-CoA (50). Bei den Flavonoiden fehlt zwar nach GRISEBACH (51) der experimentelle Beweis für den Einbau von Malonsäure noch, jedoch sei aus energetischen Gründen an dem Einbau des Azetats via Malonyl-CoA kaum zu zweifeln.

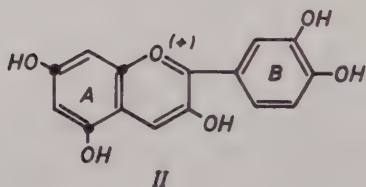


Biosynthese des Rings A der Flavonoide
aus Azetat (Malonyl)-Einheiten

Im folgenden sollen aus Gründen der Anschaulichkeit und der Prägnanz die beiden eben geschilderten Biosynthesewege noch einmal dargestellt werden in Form der Strukturen I (37) und II (40).



● = C-Atome aus Phenylalanin



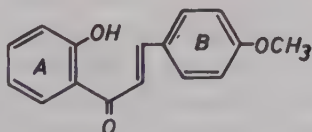
● = C-Atome der Azetat-Carboxylgruppen

IV. DIE KONSTITUTION VON FLAVOKAWIN A

Zur Aufklärung der möglichen Konstitution von Flavokawin A war von P.BÄHR (10) ein Beitrag geliefert worden, der folgende Aufschlüsse ergab:

Die Elementaranalyse und die Molekulargewichtsbestimmung lieferten die Summenformel $C_{18}H_{18}O_5$. Eins der fünf Sauerstoffatome konnte durch Azetylierung als zu einer freien Hydroxylgruppe gehörig identifiziert werden. Drei weitere Sauerstoffatome gehören auf Grund von Methoxylgruppenbestimmungen zu drei Methoxylgruppen. Das fünfte Sauerstoffatom konnte auf diese Weise nicht identifiziert werden. Der Hydrierungsversuch ließ aus der Aufnahme von zwei Mol Wasserstoff pro Mol Substanz auf eine aliphatische Doppelbindung im Molekül schließen. Das UV-Absorptionsspektrum zeigte einen Kurvenverlauf ($\lambda_{\text{Max.}} = 365 \text{ m}\mu$), der an ein den Chalkonen ähnliches chromophores System erinnerte. Schließlich konnte die Chalkonstruktur bestätigt werden durch die Isomerisierungsreaktion zum Flavanon und dessen Nachweis mit Hilfe der Reduktionsprobe nach Shinoda. Im Alkaliabbau-Versuch ließ sich papierchromatographisch durch Vergleich mit p-Methoxybenzoesäure eine der drei Methoxylgruppen lokalisieren.

Damit kann man die Ausgangssituation für die weitere Strukturauflklärung durch die nachstehende Formel ausdrücken:



Zur Vermeidung von Mißverständnissen wird hier und im folgenden entgegen der sonst bei den Chalkonen üblichen Kennzeichnung der aromatischen Ringe (in Analogie zu den Flavonoiden) der durch Azetat-Verknüpfung entstandene Ring

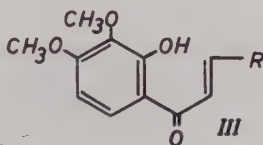
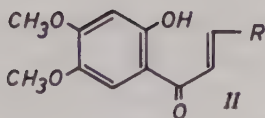
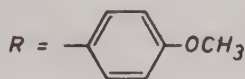
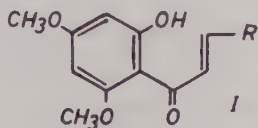
des Systems mit dem Buchstaben A bezeichnet.

Vergleicht man die Zahl der in dieser Struktur festgelegten Kohlenstoff-, Sauerstoff- und Wasserstoffatome mit der Summenformel $C_{18}H_{18}O_5$, so findet man bestätigt, was aus den bereits bekannten Eigenschaften des Flavokawin A hervorging: unbekannt ist noch die Stellung von zwei Methoxylgruppen.

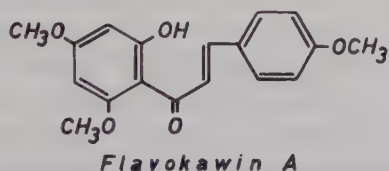
Da auch die Chalkone zu den $C_6-C_3-C_6$ -Körpern zu rechnen sind, läßt sich ihre Entstehung mit Hilfe der oben erläuterten Biogenesetheorie erklären. Danach unterteilt sich das Molekül in zwei Teile, nämlich in Ring A und den mit der aliphatischen Kette verknüpften Ring B. Dieser Ring B kann bis zu drei Hydroxylgruppen tragen, die vicinal zueinander stehen; im allgemeinen bleibt in einem solchen Falle die Hydroxylgruppe in 4-Stellung frei. Dieselbe Erscheinung tritt auf, wenn Ring B nur in 3- und 4-Stellung substituiert ist; auch dann ist gewöhnlich nur das 3-Hydroxyl substituiert. Da jedoch die einzige freie OH-Gruppe des Moleküls in 2'-Stellung angeordnet ist, wird in Betracht des methylierten 4-OH-Substituenten der Befund von P.BÄHR auch biogenetisch bestätigt, daß beide noch zuzuordnenden Methoxylgruppen nicht an Ring B, sondern an Ring A angegliedert sein müssen.

GEISSMAN und HINREINER (19) stellen fest, daß eine Hydroxylierung des Rings A immer in 2'-Stellung, gelegentlich in 2'.4'-Stellung, in der Mehrzahl aller Fälle jedoch in 2'.4'.6'-Stellung zu finden ist. Diese Substitutionsweise läßt sich aus der Biogenese des Rings A leicht erklären: Hydroxylgruppen - die in diesem Falle aus Azetat-Einheiten hergeleitet sind - werden aus der intermediär auftretenden aliphatischen 3-Azetat-Gruppierung relativ leicht entfernt, aus dem späteren aromatischen Ring jedoch nur schwer (52). Damit wird die Resorcin- oder die Phloroglucin-Struktur des A-Rings vieler Flavonoide verständlich. Sehr viel leichter als eine Entfernung eines Hydroxyls aus einem Ring geht dagegen die enzymatische Einführung

eines solchen Substituenten vor sich (52). Demnach kommt für die Substitution des Rings A infolge der Häufigkeit der Phloroglucinstruktur erstens die Gruppierung I in Frage und zweitens bei Annahme einer Resorcin-Grundstruktur die Gruppierungen II oder III.



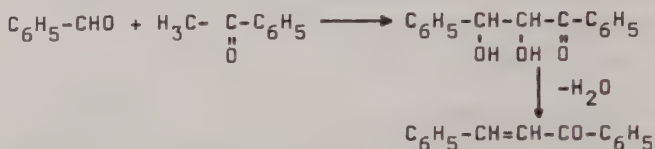
Die größere Wahrscheinlichkeit unter diesen Möglichkeiten hat Struktur I als die am wenigsten abgeleitete Form. Durch Synthetisierung dieser Substanz und durch Vergleich des Syntheseproduktes mit dem Naturstoff konnte schließlich die Richtigkeit dieser Annahme bewiesen werden.



A. Synthese von 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon

Die Synthese von Chalkonen erfolgt nach dem Verfahren der Claisen-Schmidt-Kondensation in stark alkalischem Medium. Es werden dabei in äquimolaren Mengen ein aro-

matischer Aldehyd und ein Acetophenonderivat durch Aldolkondensation unter Wasserabspaltung zum entsprechenden Benzalacetophenon kondensiert.



Die Ausbeute dieser Reaktion hängt in großem Maße ab von den Substituenten an den aromatischen Ringen der Reaktionspartner. Sie kann vor allem durch freie Hydroxylgruppen stark beeinträchtigt werden (53).

Sicherlich ist aber nicht nur der Einfluß der Substituenten auf die Reaktionsausbeute wirksam, sondern auch eine Reihe von Nebenreaktionen, die zu anderen Produkten führen als zu Chalkonen. Von solchen Nebenprodukten ist zu nennen das stets auftretende Flavanon (72); SEIKEL, LOUNSBURY und WANG (73) zitieren ferner ein Diacetophenon, das hydratisierte Chalkon $\text{ArCOCH}_2\text{CHOHAr}$, das durch Luftoxydation gebildete Flavon und polymorphe Produkte. DHAR und LAL (74) schließlich isolierten bei der Kondensation von Resacetophenon mit Benzaldehyd in 40%iger wäßrig-äthanolischer Kalilauge neben dem gewünschten Chalkon (und dem entsprechenden Flavanon) Benzylalkohol und Benzoesäure. In stark alkalischem Medium werden vor allem aromatische Aldehyde einer Disproportionierung unterworfen, die zu gleichen Teilen die entsprechende Säure und den dazugehörigen Alkohol hervorbringt. Dieser Vorgang ist als Cannizzaro-Reaktion bekannt. Zwar gibt man aus diesem Grunde einen Überschuß an Aldehyd zu dem Reaktionsgemisch, jedoch verläuft die Chalkon-Kondensation relativ langsam, so daß der konkurrierende Vorgang im Hinblick auf die Ausbeute recht wirksam zu werden vermag. Die nachstehende Tabelle enthält drei Acetophenonderivate, die mit verschiedenen aromatischen Aldehyden

zur Reaktion gebracht wurden, wobei die Ausbeute besonders bei der Reaktion mit Benzaldehyd unter 10% lag. Auffällig ist jedoch, daß dieser Wert sich wesentlich verbesserte (bis 60%) bei solchen Aldehyden, die in para-Stellung eine Methoxylgruppe tragen ⁺).

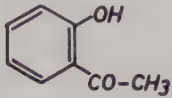
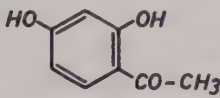
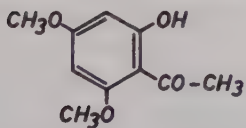
Acetphenonderivat	Aldehyd
o-Oxyacetophenon	Benzaldehyd Salizylaldehyd p-Oxybenzaldehyd Isovanillin ⁺) Veratrumaldehyd ⁺)
	
Resacetophenon	Benzaldehyd m-Oxybenzaldehyd Anisaldehyd ⁺)
	
Dimethoxyphloracetophenon	Benzaldehyd Anisaldehyd ⁺)
	

Tabelle 1

Zur Synthese des 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkons, dessen Darstellung schon 1904 St.v. KOSTANECKI und J.TAM-BOR beschrieben haben (54), wurde Phloracetophenon-4.6-dimethyläther benötigt.

1. Phloracetophenon-4.6-dimethyläther

Als Ausgangsprodukt stand Phloracetophenon zur Verfügung, das partiell methyliert werden mußte. Diese Methylierung gelang gut mit Hilfe der von BRIGGS und LOCKER (55) beschriebenen Methode, nach der die Substanz (11,3 g) mit

genau zwei Mol Dimethylsulfat (16,95 g) in wasserfreiem Aceton (200 ml) bei Anwesenheit von geglühtem Kaliumkarbonat (50 g) fünf Stunden am Rückflußkühler gekocht wurde. Infolge des dicken Bodensatzes trat ein stark stoßender Siedeverzug auf, der sich jedoch mit Hilfe eines Magnet-Rührwerks völlig beseitigen ließ. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Aceton-Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne eingeeengt und der gelbliche Rückstand in Äther gelöst. Zur Abtrennung von eventuell entstandenen Nebenprodukten und von nicht methyliertem Phloracetophenon wurde nach SONN und BÜLOW (56) diese Lösung ausgeschüttelt 5 mal mit je 20 ml n- Na_2CO_3 -Lösung (Fraktion A), dann 5 mal mit je 50 ml einer durch das doppelte Volumen verdünnten 2n-NaOH (Fraktion B) und schließlich 5 mal mit je 20 ml der unverdünnten 2n-NaOH (Fraktion C). Die nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure ausfallenden Niederschläge wurden abgesaugt. Das gewünschte Reaktionsprodukt fand sich in Fraktion B entgegen den Angaben von SONN und BÜLOW, die das Methylierungsprodukt aus Fraktion C isolierten. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol-Wasser konnte das Produkt in Form silbern-weißer Blättchen vom Schmp. $81-82^\circ$ erhalten werden (Lit. (56): $80-82^\circ$); Ausb. 10,5g.

2. Darstellung des 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkons

Die Synthese wurde nach der kalten Methode von NADKARNI und WHEELER (57) ausgeführt. 2,51 g Phloracetophenondimethyläther wurden mit 5 ml eisgekühltem Methanol und 35 ml eisgekühlter 60%iger KOH gut verrührt und mit 2,1 g Anisaldehyd versetzt. Nach kräftigem Schütteln wurde das sich rot-gelb färbende Gemisch im verschlossenen Kolben eine Woche bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde mit Wasser verdünnt und durch Ansäuern mit verdünnter HCl fiel ein gelber Niederschlag aus, der nach einmaligem Umkristallisieren über eine Polyamidsäule (58) gereinigt wurde. Das auf diese Weise erhaltene Produkt ergab nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Wasser eine Menge von 882 mg Chalkon, Schmp. $114-115^\circ$ (v. KOSTANECKI und TAMBOR 113° (54)).

B. Nachweis der Identität von synthetischem und natürlichem Flavokawin A

Der Mischschmelzpunkt des synthetischen Chalkons mit Flavokawin A zeigte keine Erniedrigung. Zum weiteren Nachweis der Identität der synthetischen und der natürlichen Verbindung wurden herangezogen: UV-Spektren (Abb.1), IR-Spektren (Abb.2) und die Werte der Elementaranalysen der Substanzen selbst sowie ihrer Azetate.

1. UV- und IR-Absorptionsspektren

Wie die Abbildungen 1 und 2 zeigen, sind die durch UV- und durch IR-Spektrophotometrie erhaltenen Kurven jeweils für Flavokawin A und für 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon identisch.

Die UV-Spektren wurden mit einem Spektralphotometer PMQ II der Firma ZEISS aufgenommen. Die Substanzen waren gelöst in Methanol p.a.(MERCK), die Konzentration betrug für Flavokawin A: $0,331 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter
2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon: $0,336 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter
Die Schichtdicke der Quarzküvetten war 1 cm; vor jeder Messung wurde die Eigenextinktion des Lösungsmittels ausgeglichen.

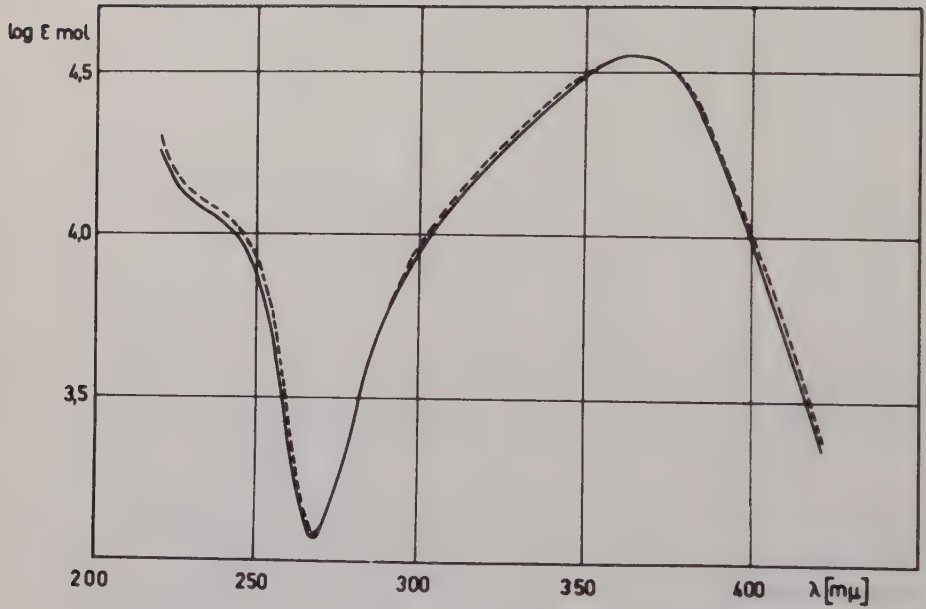
Das Maximum der erhaltenen Kurven liegt bei 364 m μ ($\log \epsilon = 4,55$), das Minimum liegt bei 268 m μ ($\log \epsilon = 3,08$).

Die IR-Spektren wurden aufgenommen in Chloroform mit einem Beckmann-IR-5-Spektrophotometer.

2. Werte der Elementaranalysen

von synthetischem und natürlichem Flavokawin A

Die Sauerstoffwerte wurden nicht durch Differenz sondern direkt ermittelt.

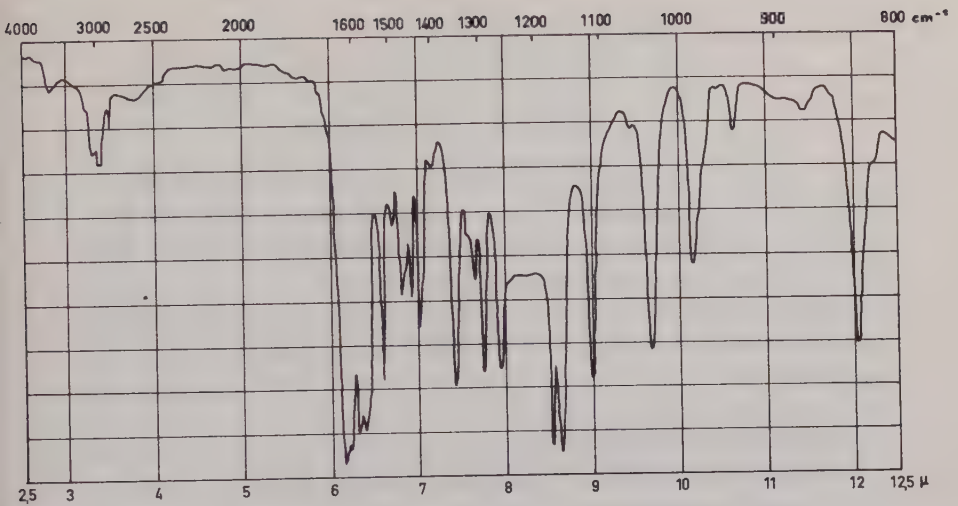


UV-Absorptionsspektren von

— : Flavokawin A

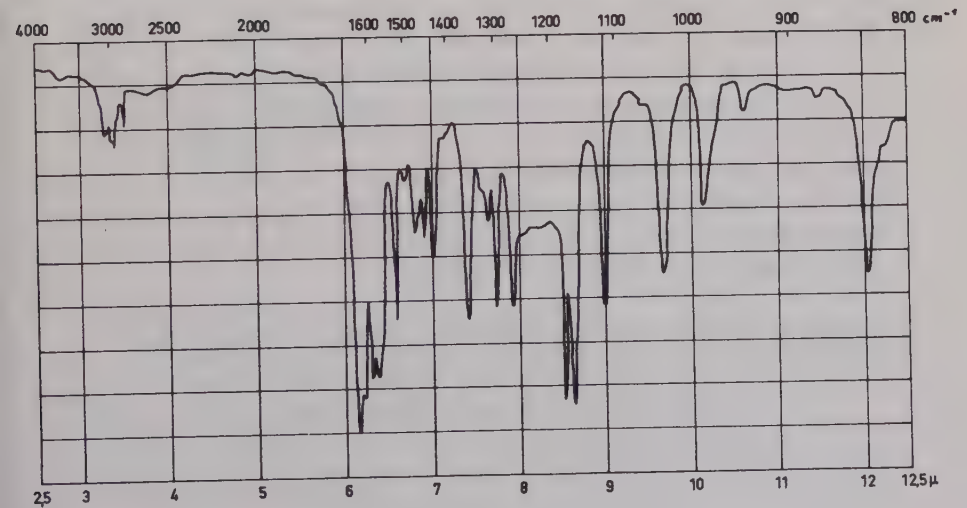
---- : 2'-Hydroxy-4,4',6'-trimethoxychalkon

Abb. 1



JR - Spektrum von Flavokawin A in Chloroform

Abb. 2



JR-Spektrum von 2'-Hydroxy-4,4',6'-trimethoxychalcon in Chloroform

C₁₈H₁₈O₅ (314,3): Flavokawin A

Ber: C 68,78 H 5,77 O 25,45 3 OCH₃ 29,62
 Gef: C 69,06 H 5,98 O 25,23 OCH₃ 29,12
 C 68,84 H 6,03 O 25,00

: 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon

Ber: C 68,78 H 5,77 O 25,45 3 OCH₃ 29,62
 Gef: C 68,58 H 5,80 O 25,42 OCH₃ 29,28
 C 68,87 H 6,04 O 25,27

Aus den weitgehend übereinstimmenden Werten der Elementaranalysen ergibt sich somit ebenfalls die Identität der Verbindungen.

3. Azetylverbindungen von

synthetischem und natürlichem Flavokawin A

Die freie OH-Gruppe in 2'-Stellung der Chalkone läßt sich leicht azetylieren. Zu der Lösung des Chalkons (50 mg) in Pyridin (15 Tropfen) wurde Essigsäureanhydrid (6 ml) gegeben und dieser Ansatz 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Aus der blaßgelb gewordenen Lösung konnte das Azetat durch Verdünnen mit Wasser ausgefällt werden. Umkristallisiert wurde aus Methanol-Wasser.

Die Azetate der synthetischen wie der natürlichen Substanz bilden zwei Kristallformen. Beim schnellen Auskristallisieren aus Methanol-Wasser erhält man blaß zitronengelbe, feine Blättchen, die bei 108-109° schmelzen. Läßt man jedoch die methanolische Lösung langsam eindunsten, so bilden sich wasserklare, schwach opalisierende Platten mit glänzenden Flächen vom Schmp. 120-121° (v. KOSTANECKI und TAMBOR 120° (54)).

C₂₀H₂₀O₆ (356,4): Azetat der natürlichen Verbindung A

Ber: C 67,40 H 5,66 CH₃CO 12,08
 Gef: C 67,55 H 6,03 CH₃CO 11,96
 C 67,55 H 6,14

: Azetat der synthetischen Verbindung A

Ber:	C 67,40	H 5,66	CH ₃ CO 12,08
Gef:	C 68,27	H 5,94	CH ₃ CO 12,22
	C 67,68	H 5,91	

L. und A. KOFLER (59) definieren das "Auftreten von zwei oder mehreren Kristallarten - Modifikationen - bei gleichbleibender chemischer Beschaffenheit eines Stoffes" als Polymorphie. Als Ursache für diese Erscheinung nennen sie "irgendwelche inneren Unterschiede der gitteraufbauenden Partikel, die in einer Assoziation oder in Unterschieden der Konfiguration begründet sein können". Dieser Äußerung entspricht das Verhalten der Azetatformen beim Schmelzvorgang insofern, als sich kein Anzeichen etwa für eine kristallwasserbedingte Polymorphie erkennen läßt. Die Schmelzpunkte der 108°-Form wie der 120°-Form bleiben unverändert, ob man die Substanzen nach 24-stündigem Trocknen bei 100° über Phosphorpentoxyd oder ob man sie ohne diese Trocknung der Schmelzpunktbestimmung unterwirft. Während des Temperaturanstiegs ist keine Veränderung an den Kristallen zu bemerken; der Schmelzvorgang erfolgt rasch. Die Schmelze beider Formen kristallisiert nach dem Abkühlen nicht wieder, sondern bildet eine harzige Masse. Ohne ein erneutes Kristallisieren aber ist eine nähere Untersuchung der beiden Formen mit einfacheren Mitteln nicht möglich.

V. DIE KONSTITUTION VON FLAVOKAWIN B

Das von P.BÄHR (10) ebenfalls erwähnte Flavokawin B, das zusammen mit Flavokawin A isoliert wurde, ist in seiner äußeren Form dem Flavokawin A sehr ähnlich. Es bildet prachtvolle gelbe Nadeln, wenn man es aus Methanol-Wasser auskristallisieren läßt; sein Schmelzpunkt liegt bei $90-91^{\circ}$. Die von BÄHR mitgeteilten Charakterisierungen der Substanz ergeben folgendes: Molekulargewicht 284,3; Summenformel $C_{17}H_{16}O_4$; die Substanz bildet ein Monoazetat, $C_{19}H_{18}O_5$, Schmp. 133° ; das UV-Absorptionsspektrum deutet wie bei Flavokawin A auf eine Chalkonstruktur.

Diese Daten sowie der Vergleich der Summenformeln von Flavokawin A ($C_{18}H_{18}O_5$) und -B ($C_{17}H_{16}O_4$) führen zu der Vermutung, Substanz B könnte sich in ihrer Struktur von Substanz A nur durch das Fehlen einer Methoxylgruppe unterscheiden. Eine Stütze für diese Vermutung kann im Verhalten des Flavokawin B bei der Trennung vom Flavokawin A an der Kieselgelsäule erblickt werden; wie beschrieben, läuft Substanz B schneller und wird eher eluiert als Substanz A, was auf den Einfluß der Substituenten zurückgeführt wurde.

Einen weiteren wichtigen Hinweis auf die Struktur von Flavokawin B gibt sein UV-Absorptionsspektrum. Die Abbildung 3 zeigt die UV-Kurven der beiden Verbindungen A und -B nebeneinander, und es ist deutlich eine Ähnlichkeit und eine Maximumverschiebung erkennbar.

Die UV-Absorption von Chalkonen kann auf die beiden chromophoren Systeme I und II zurückgeführt werden (62)(63).



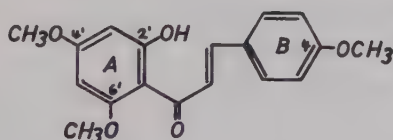
Das Absorptionsmaximum des unsubstituierten Chalkons liegt bei 312 m μ . Polyhydroxychalkone absorbieren im Bereich von 340-390 m μ (62); es tritt also durch Hydroxylsubstitution eine bathochrome Verschiebung ein. Methylierung oder Glykosidierung der Hydroxylgruppen schwächen diese Verschiebung etwas ab.

In der folgenden Zusammenstellung (62) lassen sich diese Erscheinungen gut überblicken.

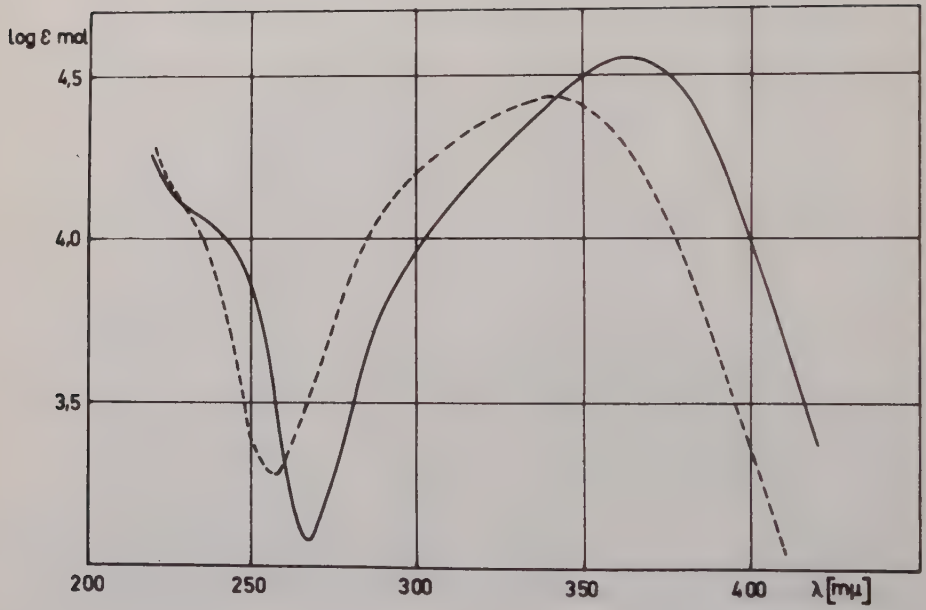
Chalkon	$\lambda_{\text{Max. m}\mu}$
a) unsubstituiert	312
b) 4'-Hydroxy	320
c) 4'.4-Dihydroxy	348
d) 4'-Äthoxy-4-methoxy	346
e) 2'.4'.4-Trihydroxy	370
f) 2'-Hydroxy-4'.4-dimethoxy	365
g) Flavokawin A	364
h) Flavokawin B	340

Tabelle 2

Im Hinblick auf die folgenden Erläuterungen sei zum besseren Verständnis noch einmal die Struktur des Flavokawin A dargestellt.



Auf Grund der von BÄHR (10) mitgeteilten Daten und durch Erörterung der Werte der Tabelle 2 im Zusammenhang mit Abbildung 3 läßt sich eine Aussage zur Struktur von Flavokawin B machen:



UV-Absorptionsspektren von

— : Flavokawin A

- - - : Flavokawin B

Abb. 3

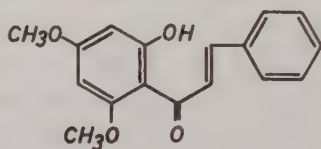
Das Maximum von Flavokawin A liegt bei 364 m μ . In Tabelle 2 findet sich eine Substanz, 2'-Hydroxy-4'.4-dimethoxy-chalkon (f), deren Maximum (bei 365 m μ) demjenigen von Flavokawin A fast entspricht. Man kann daraus entnehmen, daß die 6'-Methoxylgruppe des Flavokawin A keinen oder doch fast keinen Einfluß auf das Spektrum ausübt. Wenn das so ist, dann muß die starke bathochrome Verschiebung des Flavokawin A - Spektrums gegenüber dem des unsubstituierten Chalkons (a) ($\lambda_{\text{Max.}}=312$ m μ) durch die Substituenten in 2'-, 4'- und 4-Stellung verursacht werden. L.JURD (62) hebt hervor, daß Hydroxylgruppen in 2'- und 4-Stellung einen besonders großen Einfluß haben.

Das Absorptionsmaximum von Flavokawin B liegt bei 340 m μ . Unter der Annahme, daß Flavokawin B ein Desmethoxyderivat (2'-Hydroxy-dimethoxychalkon) von Flavokawin A ist, stellt sich also die Frage, wo hier die beiden verbleibenden Methoxylgruppen stehen, bzw. an welcher Stelle das dritte Methoxyl fehlt.

Da in 2'-Stellung laut Hypothese eine Hydroxylgruppe steht, und da die Methoxylgruppe in 6'-Stellung sich im Spektrum kaum bemerkbar macht, muß entweder das Methoxyl in 4'- oder das in 4-Stellung abwesend sein. Betrachtet man nun Tabelle 2 erneut, so fällt auf, daß zwar der 4'-Substituent (b) gegenüber dem unsubstituierten Körper (a) eine Verschiebung von 8 Wellenlängen-Einheiten verursacht, daß aber die Einführung eines zusätzlichen Hydroxyls in 4-Stellung eine wesentlich größere Änderung von weiteren 28 Einheiten bewirkt. Wenn nun das Flavokawin B - Maximum gegenüber demjenigen von Flavokawin A um 24 Einheiten hypsochrom verschoben ist, so läßt sich diese Erscheinung nur darauf zurückführen, daß Flavokawin B in 4-Stellung unsubstituiert sein muß. Somit kann Flavokawin B als 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon formuliert werden.

Dieses Ergebnis steht in Einklang mit den bei Flavokawin A erläuterten biogenetischen Zusammenhängen. Es wurde gesagt, daß der B-Ring unsubstituiert sein kann; und bei

der Häufigkeit der 2.4.6-Hydroxylierung an Ring A läßt sich die aus den UV-Spektren abgeleitete nachstehende Formulierung gut stützen.



Flavokawin B

Durch Synthetisierung dieser Substanz und Vergleich mit dem natürlichen Flavokawin B konnte die oben stehende Struktur experimentell bewiesen werden.

A. Synthese von 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon

Das 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon wurde 1899 von St. v.KOSTANECKI und J.TAMBOR (64) synthetisch dargestellt. Die Autoren beschreiben die Einwirkung von Benzaldehyd auf Phloracetophenondimethyläther; ihr Syntheseprodukt hat einen Schmelzpunkt von 91-92°.

In Anlehnung an diese Vorschrift wurde wie bei der Synthese des 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkons Phloracetophenon-4.6-dimethyläther (1,8 g) in stark alkalischem Medium mit Benzaldehyd (1,2 g) kondensiert. Gerade Benzaldehyd unterliegt sehr leicht der Cannizzaro-Reaktion, so daß die Ausbeute an Chalkon nach der Reinigung nur 300 mg (=10%) betrug; Schmp.91°.

B. Nachweis der Identität

von synthetischem und natürlichem Flavokawin B

Zum Nachweis der Identität der synthetischen und der na-

türlichen Verbindung wurden auch hier herangezogen der Mischschmelzpunkt, die UV- und IR-Spektren (Abb. 4 und 5) und die Werte der Elementaranalysen der Substanzen und ihrer Azetate.

Der Mischschmelzpunkt des synthetischen Chalkons mit Flavokawin B war nicht erniedrigt.

1. UV- und IR-Absorptionsspektren

Die Abbildungen 4 und 5 zeigen sowohl für die UV- wie für die IR-Kurven einen identischen Verlauf.

Die UV-Spektren wurden unter denselben Bedingungen aufgenommen wie diejenigen von Flavokawin A. Die Konzentration betrug für

Flavokawin B: $0,394 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter
 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon: $0,377 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter.
 Das Maximum der Kurven liegt bei 340 m μ ($\log \epsilon = 4,43$),
 das Minimum liegt bei 257 m μ ($\log \epsilon = 3,28$).

Die IR-Spektren wurden in Chloroform aufgenommen mit einem Beckmann-IR-5-Spektrophotometer.

2. Werte der Elementaranalysen

von synthetischem und natürlichem Flavokawin B

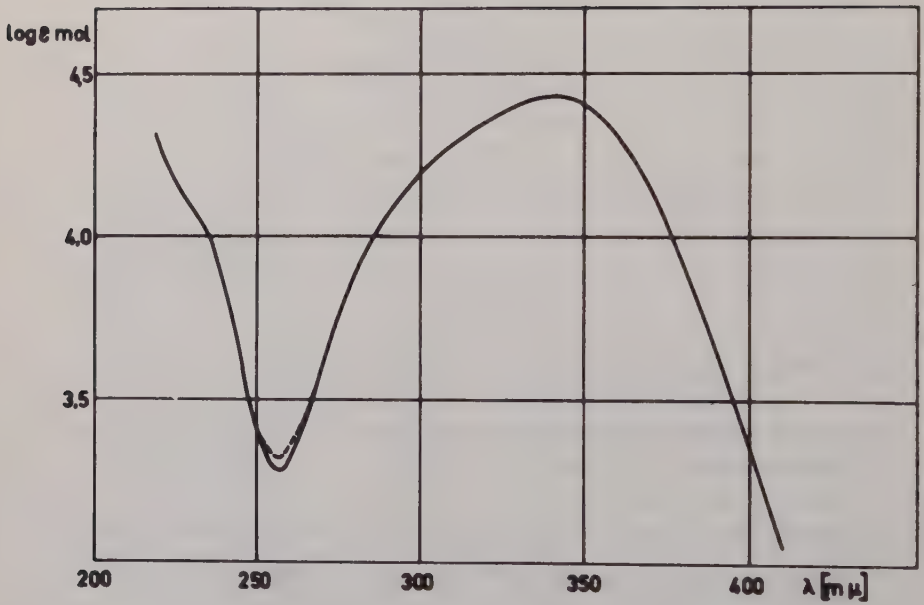
Die Sauerstoffwerte wurden direkt ermittelt.

C₁₇H₁₆O₄ (284,3) : Flavokawin B

Ber:	C 71,82	H 5,67	O 22,51	2 OCH ₃	21,83
Gef:	C 71,99	H 5,64	O 22,69	OCH ₃	21,53
	C 72,02	H 5,89	O 22,46		
	: 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon				

Ber:	C 71,82	H 5,67	O 22,51	2 OCH ₃	21,83
Gef:	C 72,07	H 5,75		OCH ₃	21,58
	C 72,30	H 6,01	O 22,55		

Auch aus diesen Werten ergibt sich die Identität der Verbindungen.

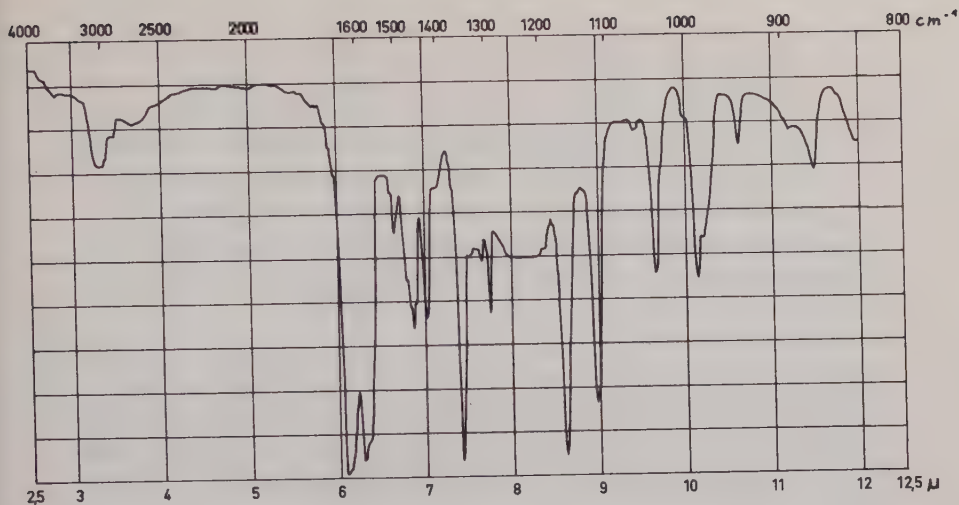


UV - Absorptionsspektren von

— : Flavokawin B

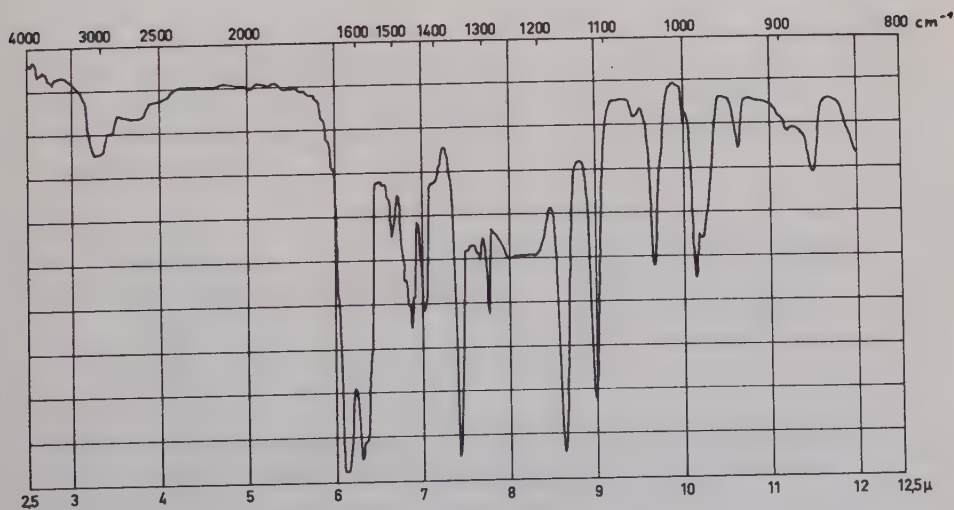
- - - : 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalkon

Abb. 4



JR-Spektrum von Flavokawin B in Chloroform

Abb. 5



JR-Spektrum von 2'-Hydroxy-4',6'-dimethoxychalcon in Chloroform

3. Azetylverbindungen

von synthetischem und natürlichem Flavokawin B

Flavokawin B trägt ebenso wie Flavokawin A in 2'-Stellung eine freie Hydroxylgruppe. Die Substanz wurde deshalb in derselben Weise azetyliert wie Flavokawin A. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Wasser erhält man weiße bis blaß-gelblich gefärbte, feine Nadelchen vom Schmelzpunkt 131-132°.

C₁₉H₁₈O₅ (326,33) : Azetat der natürlichen Verbindung B

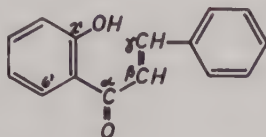
Ber:	C 69,92	H 5,56	CH ₃ CO 13,19
Gef:	C 70,43	H 5,82	CH ₃ CO 13,09
	C 70,60	H 5,67	

: Azetat der synthetischen Verbindung B

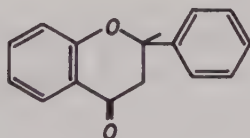
Ber:	C 69,92	H 5,56	CH ₃ CO 13,19
Gef:	C 70,32	H 5,73	CH ₃ CO 12,73
	C 70,58	H 5,76	

VI. CHALKON - FLAVANON - UMWANDLUNGEN

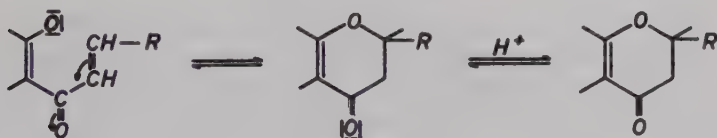
Der größte Teil der in der Natur vorkommenden Chalkone trägt in 2'-Stellung eine freie Hydroxylgruppe.



Damit ist das Molekül befähigt, unter geeigneten Bedingungen durch Ringschluß zwischen dem Sauerstoff des Hydroxyls und dem γ -C-Atom des C_3 -Anteils das isomere Flavanon zu bilden.



Unter dem Einfluß von mesomeren Zwischenstrukturen wird dem γ -C-Atom eine positive Ladung induziert, worauf sich der als Anion fungierende Sauerstoff an dieser Stelle anlagert (66).

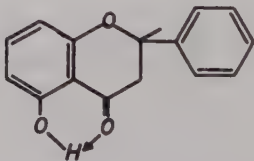


Diese Isomerisierungsreaktion geht jedoch nicht quantitativ vor sich, sondern führt stets zu einem Gleichgewicht zwischen beiden Formen; dieses Gleichgewicht liegt im sauren Milieu gewöhnlich mehr auf der Seite des Flavanons,

während im alkalischen das Chalkon begünstigt ist.

Außer den Reaktionsbedingungen spielt bei dieser Umwandlung eine sehr bedeutsame Rolle die Substitution in 6'-Stellung des Chalkons bzw. in 5-Stellung des Flavanons. Ist diese Position unsubstituiert, so fällt beim Ansäuern einer alkalischen Flavanon-Lösung ein Gemisch von Flavanon und Chalkon aus, dessen Komponenten sich getrennt isolieren lassen. Ist dagegen eine freie Hydroxylgruppe vorhanden, so wird die Stabilität des Flavanons ganz erheblich verstärkt, so daß dieses aus einer solchen Lösung unverändert wiedergewonnen werden kann. Löst man demnach Naringenin (5.7.4'-Trihydroxyflavanon) in Alkali, so erhält man zwar infolge der Einstellung des Flavanon-Chalkon-Gleichgewichts eine Gelbfärbung der Lösung, jedoch durch Ansäuern wird man stets das Flavanon allein zurückerhalten; das korrespondierende Chalkon läßt sich nicht isolieren. Es ist auch in der Natur bisher kein Chalkon gefunden worden, das in 2'- und 6'-Stellung gleichzeitig freie Hydroxylgruppen trüge.

Diese auffällige Stabilität der Flavanone bei Anwesenheit eines freien OH-Substituenten in 5-Stellung wird von NARASIMHACHARI und SESHADRI (65) mit der Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung zwischen diesem Hydroxyl und der benachbarten Carbonylgruppe erklärt.



Wie die Autoren gezeigt haben, wird diese Stabilisierung bei Methylierung oder Glykosidierung des 5-Hydroxyls jedoch aufgehoben und in ihr Gegenteil verkehrt; es ist dann das

Flavanon-Chalkon-Gleichgewicht stark zur Seite des Chalkons verschoben. Ein Vergleich verschiedener Naringenin-methyläther ergab deshalb, daß 5-Hydroxy-, 5.7-Dihydroxy- und 7-Methoxy-5-hydroxy-naringenin stabil waren, während sich 5-Methoxy- und 5.7-Dimethoxy-naringenin als instabil erwiesen und beim Ansäuern ihrer alkalischen Lösung die korrespondierenden 2'-Hydroxychalkone lieferten. Als Beispiel für den gleichartigen Einfluß, den die Glykosidierung des 5-Hydroxyls ausübt, sei das Paar der natürlich vorkommenden Verbindungen Salipurposid-Isosalipurposid genannt. Auch hier ist die Chalkonform (Isosalipurposid) die stabilere Komponente.

Wie sich aus den folgenden Untersuchungen ergibt, entspricht das Verhalten von Flavokawin A diesen Erscheinungen völlig.

A. Zyklisierung von Flavokawin A

Die Isomerisierung eines Chalkons zum Flavanon wird durch verdünnte Basen oder Säuren katalysiert. Verwendet wurden 1,5 %ige Natronlauge (67), Natriumazetat-Lösung (68) oder 4 %ige alkoholische Schwefelsäure (65). Nach den Angaben von NARASIMHACHARI und SESHADRI wurden 96 mg Flavokawin A in 4 %iger alkoholischer Schwefelsäure am Rückflußkühler 24 Stunden gekocht. Dabei hellte sich die gelbe Farbe der Lösung etwas auf, ohne jedoch völlig zu verschwinden. Nach Abdestillieren des Alkohols und Zusatz von etwas Wasser zu der zurückbleibenden Lösung konnte ein gelber Rückstand erhalten werden, der in die Chalkon- und die Flavanon-Komponente aufgetrennt wurde. Das Flavanon bildete farblose Kristalle vom Schmp. $125-126^{\circ}$ (Lit. (65): $123-124^{\circ}$).

Die Reindarstellung des Flavanons bereitete beträchtliche Schwierigkeiten. Eine Erklärung dafür findet sich in der Anwesenheit einer Methoxylgruppe in 6'-Stellung von Flavokawin A bzw. der 5-Stellung des isomeren Flavanons, wodurch dessen Stabilität stark vermindert wird. Zur

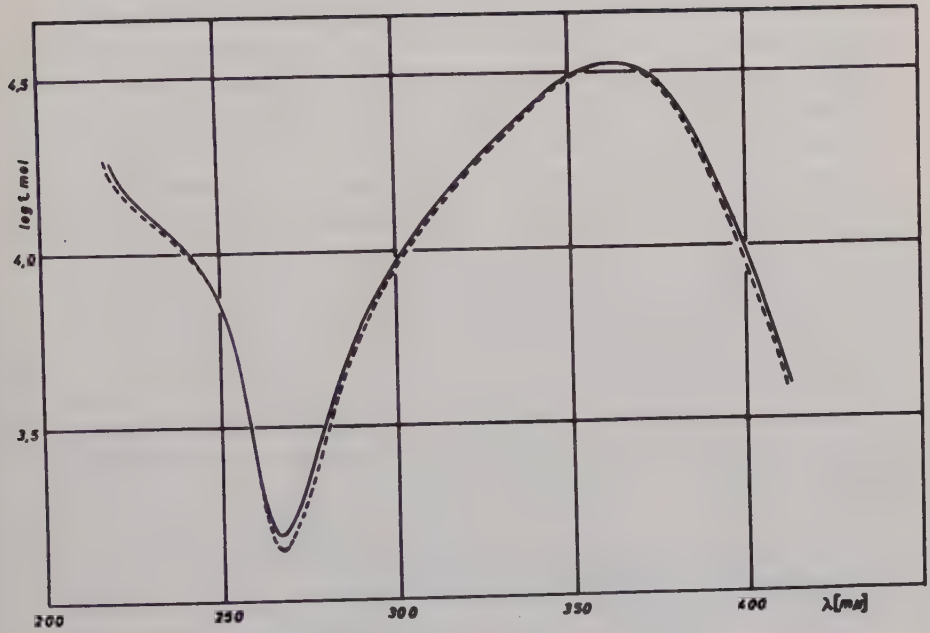
weiteren Erklärung mögen die folgenden Angaben dienen. GEISSMAN und CLINTON (53) erwähnen, daß die Kristallisation von Polyhydroxyflavanonen aus Lösungsmitteln, die evtl. nicht ganz trocken sind, bereits zur Rückbildung von Chalkon und damit zu einer erneuten Verunreinigung des fast sauberen Flavanons führen kann. Diese Beobachtung wird durch die Erfahrungen bei der Reinigung des Isoflavokawin A völlig bestätigt. In Einklang mit diesen Erfahrungen stehen vor allem auch die Angaben von NARASIMHACHARI und SESHADRI, wonach das 5.7.4'-Trimethoxyflavanon (=Isoflavokawin A) in 10 %iger Natronlauge eine gelbe Lösung lieferte, aus der nach dem Ansäuern reines 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon isoliert werden konnte.

B. Methylierung von Naringenin

Bei Verwendung von drei Mol Dimethylsulfat als Methylierungsmittel für Naringenin erhält man als Hauptprodukt 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon. In geringen Mengen kann jedoch auch Trimethylnaringenin isoliert werden.

Zu der Lösung von 1g Naringenin in 20 ml wasserfreiem Aceton wurden 1,78 g Dimethylsulfat und 15 g geglühtes Kaliumkarbonat gegeben. Nach 10-stündigem Kochen am Rückflußkühler wurde die gelbe Lösung filtriert, das Aceton abdestilliert und der Rückstand in Äther aufgenommen. Nach Verdunsten des Äthers hinterblieb eine ölig-kristallinische Masse. Mit wenig Methanol wurde nun das Öl aufgenommen und die zurückbleibenden gelben Kristalle viermal aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Der Schmelzpunkt dieser Substanz lag bei 114-115⁰, der Mischschmelzpunkt mit Flavokawin A war nicht erniedrigt; die Elementaranalyse lieferte gut übereinstimmende Werte:

Ber:	C 68,78	H 5,77	O 25,45	OCH ₃ 29,62
Flavokawin A:	C 69,06	H 5,98	O 25,23	OCH ₃ 29,12
Iso-trimethylnaringenin:	C 68,71	H 5,94	O 25,47	OCH ₃ 29,30



UV-Absorptionsspektren von
— Flavohawin A
--- Chelken-Form des Trimethyl-Maringenins

Abb. 6

Das UV-Spektrum (Abb.6) (Konzentration = $0,321 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter; $\lambda_{\text{Max.}} = 364 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,52$; $\lambda_{\text{Min.}} = 268 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3,15$) war identisch mit demjenigen von Flavokawin A.

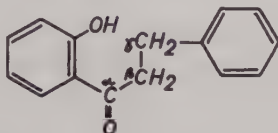
Das in Methanol aufgenommene Öl des Methylierungsrückstandes wurde nach dem Abdestillieren des Alkohols mehrmals mit heißem Wasser ausgezogen. Die filtrierten, vereinigten wäßrigen Fraktionen trübten sich beim Abkühlen; sie wurden mit Äther ausgeschüttelt. Der Rückstand der Ätherausschüttelungen lieferte beim Umkristallisieren (unter Schwierigkeiten infolge Chalkonbildung) farblose Kristalle des Trimethylnaringenins, Schmp. $125-126^{\circ}$. Der Mischschmelzpunkt mit dem durch Zyklisierung von Flavokawin A erhaltenen 5.7.4'-Trimethoxyflavanon war nicht erniedrigt.

Mit der Herstellung identischer Produkte durch Zyklisierung von Flavokawin A und Trimethylierung von Naringenin ist damit ein weiterer Beweis zur Struktur von Flavokawin A geliefert worden. Außerdem konnte Flavokawin A infolge Ringöffnung des während des Methylierungsprozesses gebildeten Trimethylnaringenins erhalten werden, was ebenfalls als ein Strukturbeweis anzusehen ist.

Auf Grund der Eigenschaften dieser Reaktionsprodukte können damit die Aussagen über die Instabilität von 5-Methoxy-flavanonen bestätigt werden.

VII. β -DIHYDROCHALKONE

Hydriert man die Doppelbindung im aliphatischen Teil eines Chalkons, so erhält man dessen β -Dihydroderivat. Solche Dihydrochalkone sind dementsprechend nicht befähigt, sich zu Flavanonen zu isomerisieren.



In der Natur sind Dihydrochalkone bisher nur selten aufgefunden worden. Jedoch schien es aus Analogiegründen nicht unwahrscheinlich zu sein, daß in Piper methysticum auch Dihydrochalkone gebildet werden. Die Vermutung stützte sich auf das gleichzeitige Vorkommen von Methysticin-Dihydromethysticin und Kawain-Dihydrokawain in der Droge. Entsprechend war vielleicht das Auftreten von Dihydroflavokawin A und (oder) -B zu erwarten.

Um die An- oder Abwesenheit der gesuchten Verbindungen eindeutig nachzuweisen, war es zunächst nötig, eine Nachweismethode auszuarbeiten. Zu dem Zweck wurden 11 Dihydrochalkone auf ihr dünnenschichtchromatographisches Verhalten geprüft und die Farbe der Chromatogrammflecke nach dem Besprühen am Tages- und im UV-Licht festgestellt. Die dabei benutzten Dihydrochalkone wurden hergestellt durch Hydrierung der entsprechenden synthetischen Chalkone in Äthanol mit Palladiumkatalysator nach PAAL. Die einzige natürliche Verbindung in dieser Reihe war Phloretin, das durch Hydrolyse (3%ige Salzsäure - Methanol 1:1 v/v; Dauer eine Stunde) von Phloridzin erhalten wurde.

Im Verlaufe einer dünnschichtchromatographischen Untersuchung von Auronen und Chalkonen stellte J.FRENZEL (75) fest, daß die R_f -Werte dieser Verbindungen hauptsächlich von den durch Hydroxyl- und Methoxylsubstituenten bedingten hydrophilen Eigenschaften der Substanzen abhängen. So konnte gezeigt werden, daß jede zusätzliche OH-Gruppe den R_f -Wert beträchtlich erniedrigt, während eine zusätzliche OCH_3 -Gruppe einen geringeren gleichartigen Einfluß hat.

Aus dem Verhalten der hydrierten Chalkone am Dünnschichtchromatogramm können diese Aussagen auch für die Dihydrochalkone bestätigt werden. Die folgende Tabelle zeigt die einzelnen Verbindungen geordnet nach ihren R_f -Werten, wobei deren Zahlenwerte nicht absolut gelten, sondern nur die relative Stellung anzeigen.

Übersicht über die geprüften β -Dihydrochalkone

	OH	OCH_3	R_f	
1	2'-	---	0.79	
2	2'-	4'.6'-	0.55	Dihydroflavokawin B
3	2'-	4'.6'.4-	0.41	Dihydroflavokawin A
4	2'.2-	---	0.38	
5	2'-	3.4-	0.34	
6	2'.4'-	---	0.33	
7	2'.3-	4-	0.31	
8	2'.4-	---	0.29	
9	2'.4'-	4-	0.25	
10	2'.4'.3-	---	0.11	
11	2'.4'.6'.4-	---	0.02	Phlorethin

Tabelle 3

Als gut geeignet für die Anfertigung dieser Chromatogramme erwiesen sich dieselben Bedingungen, die sich bereits bei Flavokawin A und -B bewährt hatten. Die Platten wurden hergestellt durch Ausstreichen einer Masse aus 15g Kieselgel G und 15g Kieselgur G in 60 ml Wasser. Getrock-

net wurde 1 Stunde bei 105°. Als Laufmittel wurde verwendet die organische Phase eines gut geschüttelten Gemisches von Cyclohexan-Essigester 70+10 (v/v) mit Formamid-Wasser 10+5 (v/v).

Das Sprühmittel enthielt Phosphorsäure conc.(5 ml) und Anisaldehyd (5 ml) in Äthanol (90 ml). Nach dem Trocknen in der Hitze bei 105° zeigte sich, daß die Dihydrochalkone zumeist nur im UV-Licht als grau-grüne Flecke zu erkennen waren mit Ausnahme der Verbindungen 2, 3, 4, 11. Die Substanzen 2 und 3 waren am Tageslicht erkennbar durch eine braunviolette Farbe, Nr.4 bildete einen gelben und Nr.11 einen gelbbraunen Fleck.

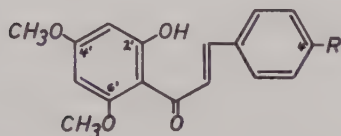
Die Verbindungen 2 und 3 der Tabelle, die nach dem Besprühen auch im Tageslicht sichtbar werden, entsprechen den im Kawa-Extrakt vermuteten Dihydrochalkonen B und -A. Bei einer dünnschichtchromatographischen Untersuchung des Gesamtextrakts müßten demnach in den R_f-Bereichen um 0.41 und 0.55 braunviolette Flecke auftreten, wenn man das Chromatogramm mit dem genannten Sprühmittel behandelt — falls die Verbindungen anwesend sind. Begünstigt wird eine solche Untersuchung im vorliegenden Falle dadurch, daß unter den gewählten Chromatographiebedingungen in den Bereichen über 0.35 nur Flavokawin A (R_f um 0.37) und Flavokawin B (R_f um 0.51) zu finden sind, die nach dem Besprühen eine rotgelbe Farbe annehmen.

Es wurden entsprechend Platten angesetzt, auf die neben dem Kawa-Gesamtextrakt auch die beiden Dihydrochalkone 2 und 3 aufgetragen waren. Außerdem wurde ein weiterer Fleck des Extrakts direkt mit den beiden Dihydrochalkonen versetzt, so daß nach dem Entwickeln durch Vergleich festgestellt werden konnte, ob sich die ursprüngliche Annahme bestätigte.

Das Ergebnis dieser Untersuchung war negativ. β -Dihydroflavokawin A und -B konnten im Methylenchloridextrakt der Kawa-Droge nicht gefunden werden.

DISKUSSION

Im Rhizom von *Piper methysticum* FORST. werden zwei Chalkone mit fast gleicher Struktur gebildet; sie unterscheiden sich voneinander nur durch die Zahl ihrer Substituenten. Flavokawin A trägt in 4-Stellung eine Methoxylgruppe, Flavokawin B ist an dieser Stelle nicht substituiert.



$R = H$: Flavokawin B

$R = OCH_3$: Flavokawin A

Daß diese Methoxylgruppe an dem Ring auftritt, der in Verbindung mit der aliphatischen Brücke als Phenylpropaneinheit betrachtet werden kann, läßt die häufig diskutierte Frage nach dem biogenetischen Zeitpunkt der Einführung von Hydroxylsubstituenten in diesen Ring auch hier auftreten.

Geht man davon aus, daß die Phenylpropankörper auf dem Wege Chinasäure $\rightarrow$ Prephensäure entstehen, so ist das Auftreten einer Hydroxylgruppe in 4-Stellung des C_6-C_3 -Grundgerüsts leicht daraus zu erklären, daß die Prephensäure eben an dieser Stelle bereits ein Hydroxyl enthält. Die Entfernung von Hydroxylgruppen aus aromatischen Ringen ist nach BIRCH (52) unwahrscheinlich, während die enzymatische Einführung solcher Gruppen keine Schwierigkeit darstellt. Über den Mechanismus der Methylierungsreaktion ist wenig bekannt, jedoch läßt sich die Wahrscheinlichkeit der Teilnahme eines Formaldehyd-Äquivalents an diesem Prozeß schwer abweisen (19).

Damit können für die Anwesenheit einer Methoxylgruppe in 4-Stellung von Flavokawin A bzw. deren Abwesenheit bei Flavokawin B zwei Entstehungswege erörtert werden. Aus dem Shikimisäure-Prephensäureweg gehen hervor Phenyl-

alanin und Tyrosin. Der gemeinsame Bildungsweg dieser Substanzen muß sich an einer Stelle verzweigen, so daß das hydroxylierte und das nicht hydroxylierte Produkt nebeneinander entstehen können. Es wäre also denkbar, daß die C_6-C_3 -Vorstufen von Flavokawin A und -B diesem verzweigten Wege ebenfalls entstammen, worauf dann jeweils die Ausbildung des A-Ringes stattfindet.

Eine zweite Möglichkeit der Bildung der Flavokawin-A-Vorstufe liegt in der enzymatischen Hydroxylierung des Flavokawin-B-Vorläufers, was beinhaltet, daß von dessen Gesamtmenge nur ein begrenzter Anteil substituiert werden darf. Es ist allerdings nicht einzusehen, warum dieser Vorgang bei einem bestimmten Mengenverhältnis (Flavokawin A : Flavokawin B = 10 : 1) der Reaktionsprodukte unterbrochen werden soll, nachdem er einmal in Gang gekommen war.

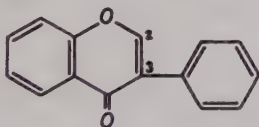
Demnach hat die zuerst dargelegte Möglichkeit der B-Ring-Substitution die größere Wahrscheinlichkeit für sich. Zudem wäre damit eine Stütze für die bereits erwähnte Auffassung von SWAIN und BATE-SMITH (36) gegeben, daß nämlich die Hydroxylierung dieses Ringes vor der Biosynthese des gesamten $C_6-C_3-C_6$ -Skeletts stattfindet.

Die Struktur der Chalkone zeigt bereits die offensichtliche Verwandtschaft zu den Flavonoiden allgemein und zu den Flavanonen im besonderen. In einem Überblick über die Ausgestaltung der Flavonoide und ihre Verteilung im Pflanzenreich äußert R.HÄNSEL (20), daß Chalkone sehr sporadisch auftreten, wobei sie in der Regel in Blüten vorkommen. Am Beispiel HELICHRYSUM wird aufgezeigt, daß sie dabei häufig vergesellschaftet sind mit einer Reihe weiterer, strukturell gleichartig substituierter C_{15} -Körper. T.R.SESHADRI (69) folgert aus ähnlichen Beobachtungen, daß Chalkone vermutlich die früheste Stufe einer möglichen Entwicklungssequenz der Flavonoide darstellen, zumal ihnen derselbe Oxydationszustand zukomme wie dem "common precursor" von ROBINSON (21).

Einen experimentellen Beitrag, der diese Hypothese stützt, gaben H.GRIEBACH und L.PATSCHKE (70) mit einer Untersuchung über das 2'.4.4'.6'-Tetrahydroxychalkon als Vorstufe für Quercetin und Cyanidin. Sie wiesen nach, daß dieses Chalkon in der Pflanze ohne vorherigen Abbau unter zusätzlicher Einführung einer Hydroxylgruppe in 3-Stellung so abgewandelt wird, daß einerseits ein Anthocyan und andererseits ein Flavonol entsteht. Daraus entnehmen sie, daß die Chalkone eine biogenetische Vorstufe bei der Flavonoid-Bildung darstellen, und daß der Oxydationszustand des Heterocyclus der Flavonoide erst auf der Chalkon- oder einer nahe verwandten C_{15} -Zwischenstufe festgelegt wird.

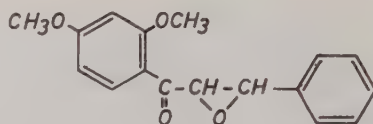
Innerhalb der Gruppe der $C_6-C_3-C_6$ -Körper ist damit die Stellung der Chalkone als biogenetischer Vorläufer von Flavanonen, von Anthocyanen und Flavonolen gesichert, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch die übrigen Flavonoide aus Chalkonen hervorgehen.

Eine Sonderstellung unter den C_{15} -Körpern nehmen die Isoflavone ein. Bei ihnen ist der Seitenphenylrest am C-3 angeknüpft, so daß diese Verbindungen nicht aus einer unversehrten C_6-C_3 -Vorstufe hervorgehen können.



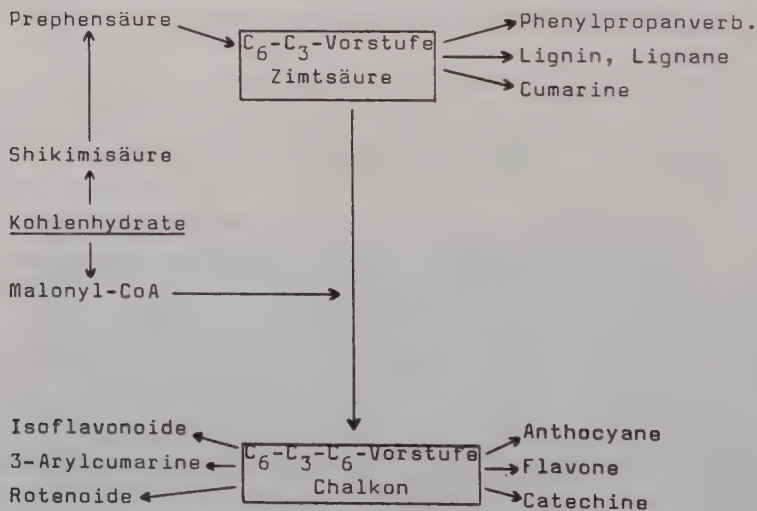
Durch Gabe von markiertem Phenylalanin und anschließenden Abbau des daraus hervorgegangenen Isoflavons konnte GRIEBACH (51) zeigen, daß im Verlaufe der Isoflavonbildung eine Arylwanderung eintritt. Die Fütterung von markierten Hydroxychalkonen und der Nachweis ihres Einbaus zeigten weiter, daß auch hier Chalkone als Vorstufen auftreten. Die wesentliche hypothetische Zwischenstruktur

(in vitro) ist dabei ein Chalkonepoxyd (71).



Nachdem die Darstellung von Isoflavonen aus solchen Verbindungen in vitro zwar gelungen ist und dabei gefunden wurde, daß der Benzoylrest die Wanderung ausführt, kommt GRISEBACH auf Grund früherer, widersprechender Ergebnisse jedoch zu der Auffassung, daß wahrscheinlich die Arylwanderung erst nach dem Ringschluß des Heterocyclus erfolgt (51). Als gesichert anzusehen ist jedenfalls die Mitwirkung von Chalkonen auch bei der Bildung der Isoflavone.

Damit zeigen die vorangegangenen Erörterungen, daß die Chalkone für die Biosynthese von Flavonoiden und Isoflavonen die wichtige Rolle des zentralen Zwischenprodukts spielen. Das folgende Schema gibt diese biogenetischen Zusammenhänge übersichtlich wieder.

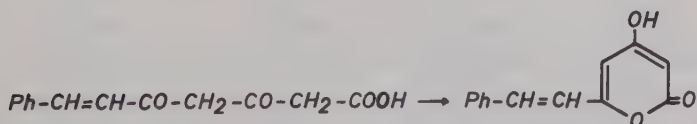


nach GRISEBACH (51)

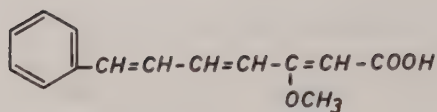
Wenn daraus also hervorgeht, daß für eine weiterführende Umgestaltung zu Flavonoiden die Chalkone als unerläßliche Intermediärprodukte fungieren, so ist damit jedoch erst ein Aspekt hinsichtlich ihrer Stellung im Stoffwechsel der sekundären Pflanzenstoffe betrachtet worden. Ein zweiter, biogenetisch gleich interessanter Aspekt tut sich auf, wenn man die Chalkone in Beziehung setzt zu den in *Piper methysticum* aufgefundenen 6-Styryl- α -pyronen.

Es war gesagt worden, daß die Addition von drei Azetat (Malonyl)-Einheiten an eine C_6-C_3 -Vorstufe durch nachfolgenden Ringschluß primär zu Chalkonen führt. Denkt man sich denselben Vorgang ausgeführt mit **z w e i** Azetat (Malonyl)-Bausteinen, so kann man einen Biogeneseweg für die Kawa-Lactone aufstellen.

BIRCH und DONOVAN (22) weisen zuerst darauf hin, daß Yangonin und dessen Begleiter Methysticin und Kawain durch Variierung des Flavonoid-Weges entstehen könnten, wobei dieser Prozeß nach der Addition von zwei Azetat-Einheiten endet und die Zyklisierung am Sauerstoff stattfindet. BIRCH (52) gibt folgende Formulierung:

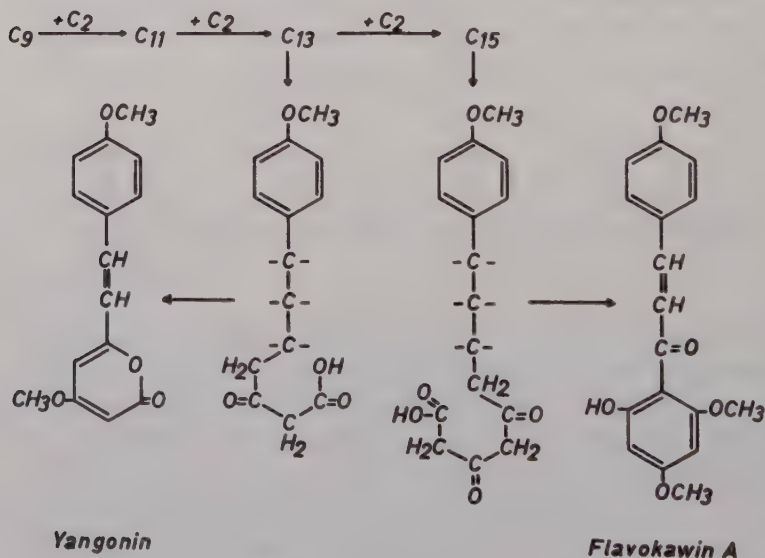


Als Beweis für das damit erforderliche intermediäre Auftreten von Poly- β -ketosäuren im Stoffwechsel führen GEISSMAN und HINREINER (19) die Existenz der Kawa-säure an, die in der Natur in Form ihres lactonisierten Enoläthers auftritt (Kawain).

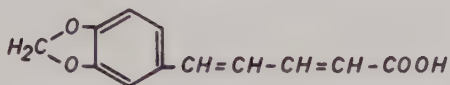


Die Kawa-Lactone erhalten damit eine besondere Bedeutung: sie sind durch ihre Existenz ein Beweis für die Richtigkeit der "Azetat(Malonyl)"-Hypothese und sie lassen sich deshalb trotz ihrer anscheinend andersartigen Struktur in ursprünglichen Zusammenhang mit den Flavonoiden bringen.

Ein von R.HÄNSEL (20) aufgestelltes Biogenese-Schema für das gemeinschaftliche Auftreten von Chalkonen und 6-Styryl- α -pyronen im Rhizom von *Piper methysticum* gibt diese Beziehungen anschaulich wieder. Der Substitution entsprechend wurde als analoge Substanz für Flavokawin A das Yangonin eingesetzt; auch für Flavokawin B findet sich im Kawa-Rhizom die entsprechende Verbindung, es ist das Kawain.



In diesem Zusammenhang fällt Licht auch auf die Biogenese des Alkaloids Piperin, das in *Piper nigrum* vorkommt. Piperin läßt sich durch saure Hydrolyse in Piperidin und in Piperinsäure zerlegen. Die Konstitution der Piperinsäure



deutet darauf hin, daß hier ein C_6-C_3 -Vorläufer mit nur einer Azetat(Malonyl)-Gruppe verknüpft worden ist. An die Carboxylgruppe lagert sich dann säureamidartig das Piperidin an. Piperin kann als Piperinsäurepiperidid charakterisiert werden.

Es läßt sich nun innerhalb der Gattung *Piper* eine Parallele aufzeigen zwischen den beiden Arten *Piper nigrum* und *Piper methysticum*. Aus derselben C_6-C_3 -Vorstufe werden zwei verschiedene Substanzen gebildet. Durch Addition eines C_2 -Bausteins bildet *Piper nigrum* das Alkaloid Piperin (Piperinsäure + Piperidin), während *Piper methysticum* zwei C_2 -Bausteine addiert und ein α -Pyron hervorbringt: das gleichartig substituierte Methysticin. Damit sind die innerhalb der Gattung *Piper* aufgefundenen völlig verschiedenen Verbindungsgruppen der Piper-Alkaloide, der 6-Styryl- α -pyrone und der Chalkone (Flavonoide) durch einen gemeinsamen Entstehungsweg ausgezeichnet und dadurch miteinander in einen biogenetischen Zusammenhang gebracht.

Man kann demnach zusammenfassen: das Auftreten von Chalkonen in Pflanzen läßt sich auf Grund der zentralen Stellung der Chalkone im Flavonoid-Stoffwechsel nicht als spezifisches Merkmal werten. Das gleichzeitige Auftreten von Chalkonen und 6-Styryl- α -pyron-Derivaten in *Piper methysticum* wirft Licht auf die Biogenese dieser α -Pyrone, und

die bis dahin hypothetischen Vorstellungen über deren Bildung in der Pflanze erhalten somit eine Stütze. Zugleich ergibt sich ein Hinweis auf den möglichen Entstehungsweg der einen Molekülhälfte des Alkaloids Piperin.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird eine Methode beschrieben, die unter Verwendung von Aluminiumoxyd eine adsorptive Trennung des aus der Kawa-Droge erhaltenen Methylenchlorid-Extrakts in auswaschbare und nicht auswaschbare Anteile gestattet. Die durch organische Lösungsmittel nicht auswaschbaren Anteile werden mit Hilfe von n-NaOH infolge Zerstörung des Adsorptionsmittels gewonnen. Die so erhaltene alkalische Lösung wird angesäuert und mit Essigester ausgeschüttelt. Der nach dem Abdestillieren des Essigesters hinterbleibende Rückstand wird in Methanol aufgelöst. Aus dieser Mutterlauge kristallisieren die beiden Chalkone Flavokawin A und Flavokawin B gemeinsam in Form eines Mischkristallisates aus.
2. Ein schon früher von P.BÄHR angegebenes Verfahren der Auftrennung des Flavokawin-Mischkristallisates in die Einzelkomponenten wird verbessert.
3. Die Konstitution von Flavokawin A wird aufgeklärt. Die Substanz ist identisch mit dem im Jahre 1904 von St.v.KOSTANECKI und J.TAMBOR synthetisierten 2'-Hydroxy-4'.6'.4-trimethoxychalkon. Sie wurde in der Natur bisher nicht aufgefunden.
4. Flavokawin B erweist sich als identisch mit dem im Jahre 1899 von St.v.KOSTANECKI und J.TAMBOR dargestellten 2'-Hydroxy-4'.6'-dimethoxychalkon. Auch Flavokawin B wird damit zum erstenmal in der Natur entdeckt.
5. Die bei der Zyklisierung von Flavokawin A zum korrespondierenden Flavanon auftretenden Schwierigkeiten können zurückgeführt werden auf die Anwesenheit einer Methoxylgruppe in 6'-Stellung des Chalkons.

6. Die aus biogenetischen Gründen als Bestandteile des Kawa-Rhizoms erwarteten β - γ -Dihydrochalkone mit einer den Flavokawin-Substanzen entsprechenden Substitution können nicht gefunden werden. Zum Zweck des chromatographischen Nachweises werden Flavokawin A und -B hydriert und die so gewonnenen Dihydroverbindungen als Vergleichssubstanzen am Dünnschichtchromatogramm benutzt.

7. Die biogenetische Stellung der Chalkone innerhalb der Gruppe der Flavonoide wird diskutiert. Das Auftreten der beiden C_{15} -Körper im Rhizom von *Piper methysticum* FORST. wirft Licht auf die Bildung der anderen charakteristischen Inhaltsbestandteile der Droge vom Typus der 6-Styryl- α -pyrone. Diese Verbindungen werden in der Pflanze vermutlich durch Addition von zwei Azetat (Malonyl)-Einheiten an eine C_6-C_3 -Vorstufe synthetisiert. Auf den biogenetischen Zusammenhang dieser Stoffe und der Chalkone mit dem in *Piper nigrum* auftretenden Alkaloid Piperin (Piperinsäure = $C_6-C_3 + 1 \times C_2$) wird hingewiesen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. L.LEWIN, Phantastica, Berlin 1927, 292 ff
E.F.STEINMETZ, Piper methysticum (Kava), Amsterdam 1960
2. W.B.MORS, M.T.MAGALHAES, O.R.GOTTLIEB in Fortschritte der
Chemie org. Naturstoffe, Springer Wien 1962, 131ff
3. W.BORSCHKE, M.GERHARDT, Ber.dtsch.chem.Ges. 47, 2902 (1914)
I.CHMIELEWSKA u. Mitarb. Tetrahedron 4, 36 (1958)
J.D.BU'LOCK, H.G.SMITH, J.Chem.Soc. 160, 502
4. Z.MACIEREWICZ, Sprawozdania Posiedzeń Towarz, Nauk.Warszaw.
Wydziat III. Nauk. Mat. Fiz. 32, 37 (1939)
Roczniki Chem. 24, 144 (1950)
M.W.KLOHS u. MITARB. J.Med.Pharm.Chem. 1, 95 (1959)
O.R.GOTTLIEB, W.B.MORS, J.Org.Chem. 24, 17 (1959)
O.R.GOTTLIEB, W.B.MORS, J.Org.Chem. 24, 1614 (1959)
5. G.CUZENT, C.R. hebd. Séances Acad. Sci. 50, 436 (1860)
G.CUZENT, C.R. hebd. Séances Acad. Sci. 52, 205 (1861)
GOBLEY, J.Pharmac.Chim. 37, 19 (1860)
O'RORKE, C.R. hebd. Séances Acad. Sci. 50, 598 (1860)
W.BORSCHKE, C.H.MEYER, W.PEITZSCH, Ber.dtsch.chem.Ges.
60, 2113 (1927)
6. E.WINZHEIMER, Arch.Pharm. 246, 338 (1908)
W.BORSCHKE, W.PEITZSCH, Ber.dtsch.chem.Ges. 62, 360 (1929)
7. W.BORSCHKE, W.PEITZSCH, Ber.dtsch.chem.Ges. 63, 2414 (1930)
8. A.G. van VEEN, Rec.Trav.Chim. Pays-Bas 58, 521 (1939)
9. R.HÄNSEL, P.BÄHR, J.ELICH, Arch.Pharm. 294/66, 739 (1961)
10. P.BÄHR, Dissertation Berlin 1962
11. H.BROCKMANN, Angew.Chem. A 59, 199 (1947)
12. H.BROCKMANN, F.VOLPERS, Chem.Ber. 82, 95 (1949)
13. F.Klages, Lehrb.d.org.Chemie III.Band, Berlin 1958, p.100
14. F.CRÄMER, O.BAYER, in HOUBEN-WEYL, Methoden d. org. Chemie
I/1 p.417, Stuttgart 1958
15. G.HESSE in HOUBEN-WEYL, Methoden d. org. Chemie
I/1 p.486, Stuttgart 1958
16. L.ZECHMEISTER, L.v.CHOLNOKY, Die chromatographische Adsorp-
tionsmethode, Wien 1938 p.55
17. R.NEU, Arch.Pharm. 293/65, 170 (1960)

- 18 G.HESSE, in HOUBEN-WEYL, Methodem d. org. Chemie
I/1 p.487, Stuttgart 1958
19. T.A.GEISSMAN, E.HINREINER, The Botanical Review 18, 77(1952)
20. R.HÄNSEL, Planta medica 10, 361 (1962)
21. R.ROBINSON, Nature 137, 172 (1936)
22. A.J.BIRCH, F.W.DONOVAN, Austral.J.Chem. 6, 360 (1953)
23. H.N.LITTLE, K.J.BLOCH, J.Biol.Chem. 183, 33 (1950)
24. R.HÄNSEL, H.U.BEIERSDORFF, Naturwissensch. 45, 573 (1958)
25. H.J.MEYER, Arch.int.Pharmacodyn. 138, 505 (1962)
26. M.W.KLOHS, F.KELLER, R.E.WILLIAMS, M.I.TOEKES, G.E.CRONHEIM
J.Med.Pharm.Chem. 1, 95 (1959)
27. T.A.GEISSMAN, T.SWAIN, Chem. and Ind. 1957 p.984
28. B.D.DAVIS, J.Biol.Chem. 191, 315 (1951)
29. I.I.SALAMON, B.D.DAVIS, J.Am.Chem.Soc. 75, 5567 (1953)
30. U.WEISS, B.D.DAVIS, E.S.MINGIOLI, J.Am.Chem.Soc. 75, 5572
(1953)
31. P.R.SRINIVASAN, H.T.SHIGEURA, M.SPRECHER, D.B.SPRINSON
B.D.DAVIS J.Biol.Chem. 220, 477 (1956)
32. E.B.KALAN, B.D.DAVIS, P.R.SRINIVASAN, D.B.SPRINSON,
J.Biol.Chem. 223, 907 (1956)
33. P.R.SRINIVASAN, D.B.SPRINSON, E.B.KALAN, B.D.DAVIS
J.Biol.Chem. 223, 913 (1956)
34. B.D.DAVIS, Advances in Enzymology 16, 247 (1955)
35. B.D.DAVIS, Arch. Biochem. Biophys. 78, 497 (1958)
36. T.SWAIN, E.C.BATE-SMITH, in M.FLORKIN u. H.S.MASON, Compara-
tive Biochemistry III. pp 755-809
Academic Press New York, London 1962
37. H.GRISEBACH, Z. Naturforsch. 12b, 227 (1957)
38. G.EBERHARD, W.J.SCHUBERT, J.Am.Chem.Soc. 78, 2835 (1956)
39. J.E.WATKIN, E.W.UNDERHILL, A.C.NEISH, Canad.J.Biochem.Bio-
phys. 35, 219 (1957)
40. H.GRISEBACH, Z. Naturforsch. 13b, 335 (1958)
41. H.REZNIK, R.URBAN, Naturwissensch. 44, 592 (1957)
42. S.A.BROWN, A.C.NEISH, Nature 175, 698 (1955)
43. L.BOGORAD, Ann. Review Plant Physiol. 9, 417 (1958)
44. A.J.BIRCH, F.D.DONOVAN, F.MOEWUS, Nature 172, 902 (1953)

45. F.J.RYAN, Science 122, 470 (1955)
46. F.WEYGAND, W.BRUCKER, H.GRISEBACH, E.SCHULZE,
Z. Naturforsch. 12b, 222 (1957)
47. P.R.SRINIVASAN, M.KATAGIRI, D.B.SPRINSON,
J.Am.Chem.Soc. 77, 4943 (1955)
48. A.J.BIRCH, in Perspectives in Org. Chemistry pp 134-154
Interscience Publishers, New York 1956
49. H.GRISEBACH, Z. Naturforsch. 12b, 597 (1957)
50. S.J.WAKIL, J.GANGULY, J.Am.Chem.Soc. 81, 2597 (1959)
51. H.GRISEBACH, Planta medica 10, 385 (1962)
52. A.J.BIRCH, in T.A.GEISSMAN, The Chemistry of Flavonoid
Compounds 618 ff. Pergamon Press Oxford, London,
New York, Paris 1962
53. T.A.GEISSMAN, R.O.CLINTON, J.Am.Chem.Soc. 68, 697 (1946)
54. St.v.KOSTANECKI, J.TAMBOR, Ber.dtsch.chem.Ges.37,792(1904)
55. H.BRIGGS, R.H.LOCKER, J.Chem.Soc. 1950,2378
56. A.SONN, W.BÜLOW, Ber.dtsch.chem.Ges. 58, 1691 (1925)
57. D.R.NADKARNI, T.S.WHEELER, J.Chem.Soc. 1938, 1320
58. R.NEU, Nature 182, 660 (1958)
59. L.u.A.KOFLER, Thermo-Mikro-Methoden, p.113, Verl.Chemie1954
60. W.KARRER, Konstitution und Vorkommen der organischen
Pflanzenstoffe, Birkhäuser Verlag Basel und
Stuttgart 1958, Nr488, Nr.506
61. A.C.NEISH, Ann. Review Plant Physiol. 11, 55 (1960)
62. L.JURD, in T.A.GEISSMAN, The Chemistry of Flavonoid
Compounds p.107, Pergamon Press Oxford, London,
New York, Paris 1962
63. H.ZMANT, A.J.BASSO, J.AmChem.Soc. 74, 4397 (1952)
64. St.v.KOSTANECKI, J.TAMBOR, Ber.dtsch.chem.Ges. 32,2263(1899)
65. N.NARASIMHACHARI, T.R.SESHADRI, Proc.Ind.Acad.Sci.
27A, 223 (1948)
66. M.ANTEUNIS, Verhandeligen van de Koninklijke Vlaamse
Academie voor Wetenschappen, Letteren en schone
Kunsten van Belgie, Klasse der Wetenschappen,
Nr.64, Brüssel 1960
67. A.LÖWENBEIN, Ber.dtsch.chem.Ges. 57, 1515 (1924)
68. G.ZEMPLEN, L.MESTER, E.KARDOS, Ber.dtsch.chem.Ges.77,457
(1944)

69. T.R.SESHADRI, in T.A.GEISSMAN, The Chemistry of Flavonoid Compounds p.156, Pergamon Press Oxford, London, New York Paris 1962
70. H.GRISEBACH, L.PATSCHKE, Z.Naturforsch. 16b, 645 (1961)
71. H.GRISEBACH, in Chemistry of Natural Phenolic Compounds p.59, ed. W.D.OLLIS, Pergamon Press Oxford, London, New York, Paris 1961
72. G.BARGELLINI, A.OLIVERIO, Ber.dtsch.chem.Ges. 75, 2083 (1942)
73. M.K.SEIKEL, M.J.LOUNSBURY, SU-CHU WANG, J.Org.Chem. 27, 2952 (1962)
74. D.N.DHAR, J.B.LAL, J.Org.Chem. 23, 1159 (1958)
75. R.HÄNSEL, L.LANGHAMMER, J.FRENZEL, G.RANFT, J.Chromatography 1963 im Druck

LEBENS LAUF

Am 15. Februar 1934 wurde ich, Günter Bruno Oswald Ranft, Sohn des Gärtners Bruno Ranft und seiner Ehefrau Margarete, geb. Weber, in Breslau geboren.

Meine Schulausbildung begann 1940 in der Volksschule 67 in Breslau. 1944 trat ich in die Oberschule in Trebnitz/Schles. ein; 1946 setzte sich der Schulunterricht fort an der Bismarckschule (Oberschule für Jungen) in Hannover. Dort legte ich 1955 das Abitur ab und begann anschließend die zweijährige Apothekerpraktikantenzeit in der Hirsch-Apotheke in Hannover.

Nach Abschluß des pharmazeutischen Vorexamens im Jahre 1957 konnte ich mit dem Pharmaziestudium im Sommersemester 1957 an der Freien Universität beginnen. 1960 beendete ich das Studium mit der Pharmazeutischen Prüfung.

Seit März 1961 bin ich im Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel mit der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

